

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA**

**E.A.P. DE MEDICINA VETERINARIA**

**“IDENTIFICACIÓN HISTOPATOLÓGICA DE LESIONES  
INDUCIDAS POR BIOACUMULACIÓN DE METALES  
PESADOS EN BRANQUIAS, HÍGADO Y MÚSCULO DE  
TRUCHA ARCOÍRIS (*Oncorhynchus mykiss*) DE CULTIVO  
EN ETAPA COMERCIAL DE LA LAGUNA DE  
MAMACocha, ÁREA DE INFLUENCIA MINERA,  
CAJAMARCA-PERÚ.”**

**TESIS**

**Para optar el Título Profesional de:**

**Médico Veterinario**

**AUTOR:**

**Rosalía Karina Huancaré Pusari**

**Lima – Perú**

**2014**

***Dedicatoria:***

***“A mi mamá por su incansable apoyo y fe en mí”.***

***Agradecimientos:***

*A Dios por la vida, y en realidad por TODO*

*A mi familia por el continuo apoyo*

*A mi asesora, la Dra. Nieves, por el aliento y apoyo sinceros*

*Al Dr. Néstor Falcón y Dr. Wilson Gómez por su apoyo en la culminación de la tesis*

*A mis amistades por los agradables momentos compartidos*

*A mi Tigrilla y Plomilli por su cariño inmenso, verdadero e incondicional.*

## ÍNDICE DE CONTENIDO

Dedicatoria.....	ii
Agradecimientos.....	iii
Índice de contenido.....	iv
Resumen.....	vii
Abstract.....	viii
Lista de cuadros.....	ix
Lista de figuras.....	xi
Lista de anexos.....	xiv
Lista de abreviaturas.....	xv
I. Introducción.....	1
II. Revisión bibliográfica	
2.1. Situación de la acuicultura nacional.....	3
2.2. Aspectos generales en la acuicultura de la trucha Arcoíris.....	9
2.3. Contaminación del ambiente acuático.....	10
2.3.1. Impacto de la minería aurífera a tajo o cielo abierto.....	11
2.3.2. Metales pesados en el cuerpo de agua.....	15
2.3.3. Metales pesados en el sedimento.....	16
2.4. Metales pesados o metales tóxicos.....	17
2.4.1. Bioacumulación y biomagnificación de metales pesados.....	19
2.4.2. Arsénico	
2.4.2.1. Fuentes y usos.....	23
2.4.2.2. Propiedades químicas y bioquímicas.....	23
2.4.2.3. Efectos en la biota acuática.....	26
2.4.2.4. Efectos en el hombre.....	28
2.4.3. Cadmio	
2.4.3.1. Fuentes y usos.....	29
2.4.3.2. Propiedades químicas y bioquímicas.....	29
2.4.3.3. Efectos en la biota acuática.....	32
2.4.3.4. Efectos en el hombre.....	32
2.4.4. Cobre	
2.4.4.1. Fuentes y usos.....	33
2.4.4.2. Propiedades químicas y bioquímicas.....	33
2.4.4.3. Efectos en la biota acuática.....	36

2.4.4.4. Efectos en el hombre.....	37
2.4.5. Cromo	
2.4.5.1. Fuentes y usos.....	38
2.4.5.2. Propiedades químicas y bioquímicas.....	38
2.4.5.3. Efectos en la biota acuática.....	40
2.4.5.4. Efectos en el hombre.....	41
2.4.6. Mercurio	
2.4.6.1. Fuentes y usos.....	42
2.4.6.2. Propiedades químicas y bioquímicas.....	43
2.4.6.3. Efectos en la biota acuática.....	46
2.4.6.4. Efectos en el hombre.....	47
2.4.7. Zinc	
2.4.7.1. Fuentes y usos.....	47
2.4.7.2. Propiedades químicas y bioquímicas.....	48
2.4.7.3. Efectos en la biota acuática.....	50
2.4.7.4. Efectos en el hombre.....	51
III. Materiales y métodos	
3.1. Lugar de muestreo.....	53
3.2. Animales de estudio.....	54
3.3. Metodología	
3.3.1. Concentración de metales pesados en agua.....	54
3.3.2. Concentración de metales pesados en tejido.....	56
3.3.3. Factor de bioacumulación (FBA).....	63
3.3.4. Histopatología en tejido.....	64
IV. Resultados	
4.1. Concentraciones obtenidas en sedimento.....	60
4.2. Concentraciones obtenidas en agua.....	61
4.3. Concentraciones obtenidas en tejido.....	62
4.4. Factor de bioacumulación (FBA).....	63
4.5. Histopatología en tejido.....	64
V. Discusión	
5.1. Concentración de metales pesados en agua y sedimento.....	77
5.2. Bioacumulación de metales pesados.....	79
5.2.1. Bario.....	79
5.2.2. Cobre.....	81
5.2.3. Cromo.....	81

5.2.4. Zinc.....	81
5.3. Histopatología.....	82
5.3.1. Branquias.....	82
5.3.2. Hígado.....	84
5.3.3. Músculo estriado esquelético.....	86
5.4. Índice de alteración histopatológica.....	87
VI. Conclusiones.....	88
VII. Recomendaciones.....	89
VIII. Literatura citada.....	90
IX. Anexos.....	107

## RESUMEN

El objetivo principal del presente trabajo fue identificar las lesiones histopatológicas presentes en trucha Arcoíris, *Oncorhynchus mykiss*, de cultivo por exposición a un ambiente contaminado. Se colectaron 35 peces (edad=8-9 meses, peso=200 g  $\pm$ 1,7 y talla=26,65 cm  $\pm$ 1,43) al azar para obtener muestras de branquias, hígado y músculo estriado esquelético, además se tomó muestra de un (1) litro de agua de la laguna. La determinación de metales pesados en el sedimento fue realizada en diciembre de 2011 a cargo de la concesión acuática y estos datos fueron proporcionados al presente estudio para su análisis. La concentración de metales pesados se determinó con espectrofotometría de absorción atómica y los niveles de metales pesados en agua no superaron el límite máximo permisible; sin embargo, algunos valores (As, Cd y Hg) en sedimento estuvieron por encima del nivel permitido. Los tres tejidos analizados bioacumularon mayor cantidad de Zn y Ba (músculo>hígado>branquias) y en menor cantidad Cd, Cr, Cu y Pb. La tinción H&E fue usada para la histopatología, hallándose en branquias las alteraciones más importantes, las lamelas presentaron degeneración hidrópica, acortamiento, fusión y necrosis, en el filamento se observó hiperplasia de células basales indiferenciadas y necrosis. En hígado se observó degeneración, hidrópica y grasa, y necrosis; y en músculo estriado esquelético se halló edema intramuscular y degeneración hialina y granular. De acuerdo al protocolo propuesto por Bernet *et al.* (1999), los cambios patológicos fueron convertidos en índices para su evaluación cuantitativa. Los índices promedio obtenidos muestran que las branquias (28,77) fueron más afectadas que el hígado (25,77) y músculo estriado esquelético (18,29). Se concluye que las lesiones en los tejidos estudiados pueden ser inducidas por los metales pesados debido a que son similares a las reportadas en varias investigaciones a exposición natural y controlada a metales pesados, y también a la bioacumulación encontrada en cada tejido.

**Palabras clave:** *Trucha Arcoíris, metales pesados, bioacumulación, histopatología, laguna Mamacocha, Perú.*

## ABSTRACT

The main target in this work was identifying histological injuries into farm's Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, by exposed to a polluted environment. Thirty-five fish (age=8-9 months, weight=200g±1,7 y length=26,65 cm ±1,43) were took at random to get gill, liver and splined muscle samples. Furthermore, we took 1 L water sample from Mamacocha Lake and the fish farm gave us data from sediment for its analysis. Heavy metals concentration was determinate by atomic absorption spectrophotometer, we found heavy metals concentrations below allowed levels into water, however sediment presented concentrations above allowed levels (As, Cd and Hg). The three tissues bioaccumulated more amount of Zn and Ba (muscle > liver > gill) and less amount of Cd, Cr, Cu y Pb. The haematoxylin and eosin (HE) staining was used to histopathology. The gill lamella presented major changes like hydropic degeneration, fusion, reduced length and necrosis whereas the filament cells presented hyperplasia and necrosis. In liver was found hydropic and fatty degeneration as well as necrosis and some nuclear alterations showed by light microscopy. Finally in muscle was found intramuscular oedema and degeneration both hyaline and granular. According to the proposal protocol by Bernet *et al.* (1999), the pathologic changes were become in an index for quantitative assessment. The gill was more affected and got an index (28,77) higher than liver (25,77) and splined muscle (18,29). It conclude that lesions found could be induced by heavy metals because it was reported similar lesions in other studies of natural and controlled exposures to heavy metals, and bioaccumulation observed in tissues support this suggest.

**Key words:** *Rainbow trout, heavy metals, bioaccumulation, histopathology, Mamacocha Lake.*



## LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Los principales productores acuícolas por regiones y a nivel mundial en 2010.....	5
Cuadro 2. Perú: Cosecha de recursos hidrobiológicos procedentes de la actividad de acuicultura por ámbito y según especie, 2001-10.....	6
Cuadro 3. Perú: Venta interna de recursos hidrobiológicos procedentes de la actividad de acuicultura según especie, 2010 (TM).....	8
Cuadro 4. Lista de sustancias prioritarias de la ATSDR 2011.....	19
Cuadro 5. Medidas del factor de bioacumulación.....	56
Cuadro 6. Clasificación de reacciones patrón (rp) de los cambios patológicos en tejido para la evaluación histopatológica en contaminación acuática.....	57
Cuadro 7. Valor del score (a) en el grado de extensión lesional para la evaluación histopatológica en contaminación acuática.....	58
Cuadro 8. Factor de importancia (w) empleado para la evaluación histopatológica en contaminación acuática.....	58
Cuadro 9. Grados de degeneración grasa en tejido hepático en trucha Arcoíris.....	59
Cuadro 10. Concentración de metales pesados (mg/kg) en sedimento de la laguna Mamacocha de Cajamarca, Perú (Diciembre del 2011).....	61
Cuadro 11. Concentración de metales pesados (µg/L) en la laguna Mamacocha de Cajamarca, Perú.....	61
Cuadro 12. Parámetros físico-químicos, diciembre de 2011, del agua de la laguna Mamacocha en Cajamarca, Perú.....	62
Cuadro 13. Concentración de metales pesados (mg/kg) en tejido de trucha Arcoíris de cultivo, (peso húmedo, n=35).....	63
Cuadro 14. FBA de Zn, Ba y Cu en branquias, hígado y músculo estriado esquelético de trucha Arcoíris de cultivo en Cajamarca, Perú.....	63
Cuadro 15. Frecuencia de alteraciones histopatológicas en branquias de truchas Arcoíris de cultivo de Cajamarca, Perú.....	64

Cuadro 16. Frecuencia de alteraciones histopatológicas en hígado de truchas Arcoíris de cultivo de Cajamarca, Perú.....	69
Cuadro 17. Frecuencia de alteraciones histopatológicas en músculo estriado esquelético de truchas Arcoíris de cultivo de Cajamarca, Perú.....	72
Cuadro 18. Frecuencia de índices de las alteraciones histopatológicas en tejido de trucha Arcoíris de cultivo de Cajamarca, Perú.....	74

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Zonas con mayor actividad acuícola.....	4
Figura 2. Perú: Cosecha de recursos hidrobiológicos procedentes de la actividad de acuicultura, 2001 – 10.....	7
Figura 3. Izquierda. Perú: Exportación de recursos hidrobiológicos procedentes de la actividad de acuicultura según especie, 2010. Derecha. Perú: Exportación de recursos hidrobiológicos procedentes de la actividad de acuicultura según continente, 2010..	9
Figura 4. Ingreso de sustancias químicas y su distribución dentro de los sistemas acuáticos, enfatizando la bioacumulación por el pez.....	10
Figura 5. Movimiento de sustancias químicas a través de la cadena alimenticia acuática.....	11
Figura 6. Unidades mineras en producción y proyectos en exploración en el departamento de Cajamarca – Perú (ampliación del mapa original).....	13
Figura 7. Vías para la absorción, distribución y eliminación de compuestos xenobióticos en peces.....	19
Figura 8. Cascada de alteraciones histopatológicas como resultado de alteraciones bioquímicas y fisiológicas de un organismo.....	21
Figura 9. Efectos de As(+3) sobre el sistema de enzimas sulfhidrilo.....	26
Figura 10. Esquema básico de flujo de Cd en el cuerpo.....	31
Figura 11. Toxicidad del Cr (VI): captación, reducción y daño al ADN.....	39
Figura 12. Las vías en el ciclo del Hg en ambientes acuáticos son muy complejas.....	43
Figura 13. Vista panorámica y satelital de la laguna Mamacocha en Cajamarca.....	53
Figura 14. Geografía de la situación de influencia minera de la laguna Mamacocha en Cajamarca.....	54
Figura 15. Vista externa (arriba) e interna (abajo) de cavidad celómica de trucha Arcoiris TC2, sacrificada por corte medular.....	55

Figura 16. Vista externa (arriba) e interna (abajo) de cavidad celómica de trucha Arcoíris TC4, sacrificada por corte medular.....	55
Figura 17. Microfotografía de lamelas de trucha Arcoíris con moderado edema subepitelial....	65
Figura 18. Microfotografía de lamelas de trucha Arcoíris con moderada fusión.....	65
Figura 19. Microfotografía de lamelas de trucha Arcoíris con moderado acortamiento.....	66
Figura 20. Microfotografía de branquias de trucha Arcoíris con moderada degeneración hídrica en lamelas y células indiferenciadas basales de filamento.....	66
Figura 21. Microfotografía de filamento de trucha Arcoíris con moderada hiperplasia de células mucosas en el ápice.....	67
Figura 22. Microfotografía de lamelas de trucha Arcoíris con moderada necrosis epitelial....	67
Figura 23. Microfotografía de lamelas de trucha Arcoíris con moderada necrosis de células epiteliales.....	68
Figura 24. Microfotografía de branquias de trucha Arcoíris con presencia parasítica intracelular.....	68
Figura 25. Microfotografía de branquias de trucha Arcoíris con presencia parasítica extracelular.....	69
Figura 26. Microfotografía de hígado de trucha Arcoíris con moderada degeneración hídrica.....	70
Figura 27. Microfotografía de hígado de trucha Arcoíris con moderada degeneración grasa grado IV.....	70
Figura 28. Microfotografía de hígado de trucha Arcoíris con moderada cariopícnosis en hepatocitos.....	71
Figuras 29. Microfotografía de hígado de trucha Arcoíris con alteraciones nucleares en hepatocitos.....	71
Figura 30. Microfotografía de hígado de trucha Arcoíris con moderada necrosis celular (N) con pérdida del detalle celular y degeneración grasa grado IV.....	72

Figura 31. Microfotografía (corte transversal) de músculo estriado esquelético de trucha Arcoíris con moderada degeneración granular.....	73
Figura 32. Microfotografía (corte longitudinal) de músculo estriado esquelético de trucha Arcoíris con moderada degeneración granular y degeneración hialina .....	73
Figura 33. Gráfico de la frecuencia de índices de las alteraciones histopatológicas en tejido detrucha Arcoíris de cultivo de Cajamarca, Perú.....	75
Figura 34. Gráfico del índice promedio de la extensión de las alteraciones histopatológicas por tejido en trucha Arcoíris de cultivo de Cajamarca, Perú.....	75

## LISTA DE ANEXOS

<b>Anexo 1:</b> Ubicación geográfica de la laguna Mamacocha y de las estaciones de monitoreo.	107
<b>Anexo 2:</b> Métodos de referencia empleados en el estudio de la calidad del agua y sedimento de la laguna Mamacocha.....	108
<b>Anexo 3:</b> Calidad del sedimento medido en la laguna Mamacocha, Cajamarca-Perú.....	110
<b>Anexo 4:</b> Decreto Supremo 002-2008-MINAM. Lima - Perú. Estándares Nacionales de Calidad Ambiental para Agua.....	111
<b>Anexo 5:</b> Lista de sustancias químicas indicando sus límites máximos permisibles para la acuicultura.....	112

## LISTA DE ABREVIATURAS

**AECO-AT:** Asociación Ecologista Costarricense - Amigos de la Tierra

**ATSDR:** Agency for Toxic Substances and Disease Registry

**ASTM:** American Society for Testing and Materials

**AOAC:** Association of Official Analytical Chemists

**CCME:** Canadian Council of Ministers of the Environment

**EQGs:** Canadian Environmental Quality Guidelines

**CFIA:** Canadian Food Inspection Agency

**CICAD:** Concise International Chemical Assessment Document 33

**EFSA:** European Food Safety Authority

**EU:** European Union

**FAO:** Food and Agriculture Organization of the United Nations

**INEI:** Instituto Nacional de Estadística e Informática

**ITP:** Instituto Tecnológico Pesquero

**MINAG:** Ministerio de Agricultura y Riego

**MINAM:** Ministerio de Ambiente

**MINECO:** Ministerio de Economía y Competitividad

**MINEM:** Ministerio de Energía y Minas

**PRODUCE:** Ministerio de la Producción

**MINSA:** Ministerio de Salud

**NAS:** National Academy of Sciences

**NRC:** National Research Council

**NRCC:** National Research Council of Canada

**NTP:** National Toxicology Program

**OECD:** Organisation for Economic Co-operation and Development

**OIE:** World Organisation for Animal Health

**SNMPE:** Sociedad Nacional de Minería, Petróleo y Energía

**USEPA:** United States Environmental Protection Agency

**USGS:** United States Geological Survey

**WHO:** World Health Organization

## I. INTRODUCCIÓN

La contaminación del medio ambiente constituye un creciente problema a nivel mundial debido al impacto que los desechos antropogénicos provocan en los ecosistemas. Los cuerpos de agua (mares, ríos, lagos y lagunas), resultan contaminados como consecuencia de la falta de control y tratamiento de desechos sólidos, líquidos y gaseosos provenientes de actividades industriales y domésticas (Vosyliene y Jankaite, 2006; Russell *et al.*, 2008; Chung, 2011).

Los contaminantes, alcanzan el ecosistema por tres vías diferentes; la primera, por la descarga directa a los cuerpos de agua; la segunda, por la filtración terrestre debido a la propiedad absorbente del suelo; y la tercera, por la vía aérea con partículas tóxicas que pueden viajar largas distancias y alcanzar cuerpos de agua en los cuales se sedimentan (Förstner y Wittmann, 1981; Rosas, 2001).

Sustancias químicas peligrosas, tales como los metales pesados, dioxinas y bifenilos policlorados, persisten en ciertos tejidos y tienden a bioacumularse a lo largo de la cadena alimenticia (OIE, 2012). De entre estos contaminantes mencionados, los metales pesados generan mayor impacto por su baja biotransformación o descomposición y su alta toxicidad en los organismos (Canli *et al.*, 1998; Siegel, 2002; Altindag y Yigit, 2005).

Todos los metales, ya sean biológicamente esenciales o no, se caracterizan por ser potencialmente dañinos en los organismos a concentraciones elevadas. La bioacumulación tiene efectos negativos no sólo sobre las actividades vitales de los organismos, sino también amenaza



la salud humana por la alteración que produce en la cadena alimenticia cuando los niveles de concentración son superiores a los límites aceptables (Canli *et al.*, 1998; Siegel, 2002; Rajeshkumar y Munuswamy, 2011). La Union Europea (EU, 2006) legisló límites máximos permisibles en varios alimentos de consumo humano puesto que los efectos tóxicos de los metales pesados han sido bastante investigados y discutidos, incluyendo la bioacumulación en diversas especies (Aucoin *et al.*, 1999; Usha Rani, 2000; Rasmussen y Anderson, 2000; Adami *et al.*, 2002; Waqar, 2006).

Los efectos de las elevadas concentraciones de estos contaminantes metálicos en los cuerpos de agua se pueden observar en los organismos susceptibles a estos. Los peces son considerados como uno de los mejores bioindicadores de calidad ambiental por responder con gran sensibilidad a cambios en el medio ambiente acuático (Mondon *et al.*, 2001; Iroká y Drastichová, 2004). Han sido ampliamente utilizados para evaluar la integridad biótica en arroyos y ríos de Norteamérica (Karr, 1981), Brasil (Araújo, 1998) y México (Contreras-Balderas *et al.*, 2002), así como también han sido adaptados para evaluar la calidad ambiental en lagos (Minns *et al.*, 1994) y estuarios de Norteamérica (Deegan *et al.*, 1997) y Europa (Gerson *et al.*, 2000).

Las actividades humanas, especialmente la minería, contribuyen a la contaminación con liberación y aumento de las concentraciones naturales de los metales pesados en el medio ambiente. La piscicultura en un área cercana o de influencia minera, constituye una de las actividades económicas más vulnerables debido a la exposición y efectos de la bioacumulación de metales pesados tóxicos, afectando el desarrollo y crecimiento normales y su capacidad reproductiva y productiva tanto de los peces de cultivo como de la fauna y flora silvestre, pudiendo provocar en ellos alteraciones en el metabolismo y citoarquitectura de sus órganos de acuerdo a las investigaciones realizadas a exposición natural y controlada.

Algunos metales pesados pueden biomagnificarse a través de la cadena trófica, es decir, aumentan su concentración en un organismo a medida que avanza de nivel trófico. La cantidad de metales pesados que ingerimos a través de los alimentos son usualmente mucho más preocupantes que las atribuidas al agua de consumo. Paradójicamente, los metales pesados en el pescado que se ingiere, habitualmente, proviene del agua dulce (Baird, 2001). La incorporación de estas sustancias tóxicas en la cadena alimenticia los califica como contaminantes eficaces; por ello, tienen un impacto ambiental drástico en todos los organismos (Mason, 2002).

El objetivo principal del presente estudio fue identificar las lesiones en tejido de trucha Arcoíris de cultivo debido a la bioacumulación de metales pesados; además, como objetivos secundarios fue hallar la concentración de estas sustancias en tejido y en el agua de la laguna.

## II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Situación de la acuicultura nacional

La acuicultura en el Perú actualmente se encuentra orientada a la producción de langostino (*Litopenaneus vannamei*), concha de abanico (*Argopecten purpuratus*), trucha (*Oncorhynchus mykiss*), tilapia (*Oreochromis sp.*) y algunos peces amazónicos como la gamitana (*Colossoma macropomun*), paco (*Piaractus brachypomus*) y algunos híbridos de estas dos últimas especies como pacotana y gamipaco (*Colossoma macropomun* y *Piaractus brachypomus*). Asimismo, existe una gran variedad de especies con potencial acuícola, como son la doncella (*Pseudoplatystoma fasciatum*), dorado (*Brachyplatystoma sp.*), paiche (*Arapaima gigas*), zúngaro (*Pseudoplatystoma tigrinum*) entre otros peces amazónicos y otros recursos hidrobiológicos de procedencia marina como son el atún de aleta amarilla (*Thunnus albacares*), el barrilete (*Katsuwonus pelamis*), la corvina (*Cilus gilberti*), cabrilla (*Paralabrax humeralis*), chita (*Anisotremus scapularis*), el lenguado (*Paralichtys adspersus*), entre otros (PRODUCE, 2009).

La acuicultura peruana se lleva a cabo en áreas autorizadas y concesionadas. Gran parte de la producción acuícola está orientada a la exportación, mientras que el mayor número de emprendimientos está a cargo de acuicultores de menor escala. En la costa predominan los cultivos de langostino (Tumbes y Piura) y concha de abanico (Piura, Ancash e Ica); mientras el cultivo predominante en la sierra es el de trucha (PRODUCE, 2009) (Figura 1).

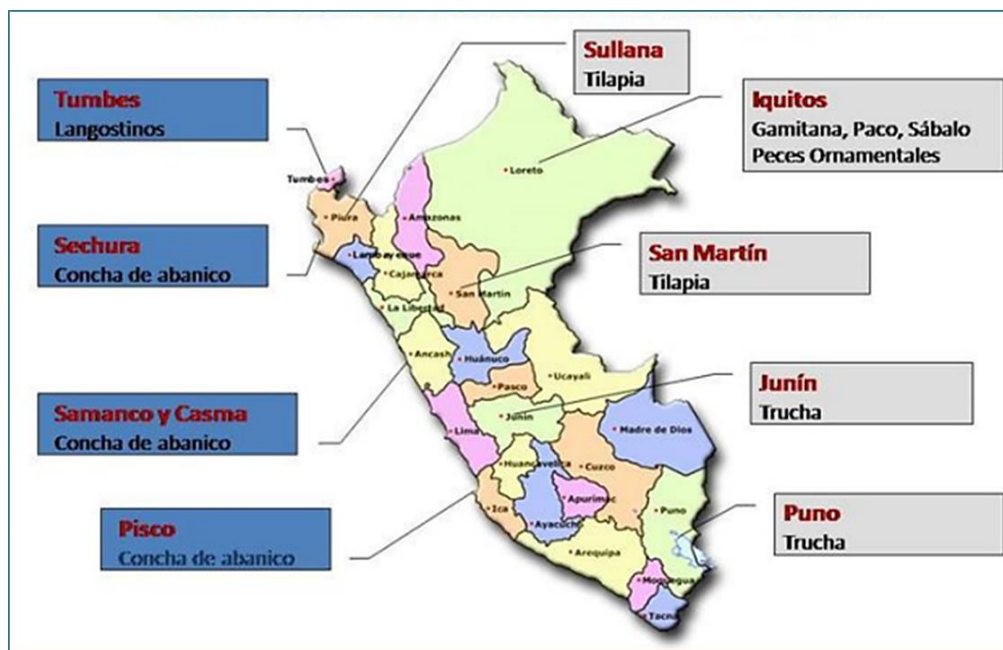


Figura 1. Zonas con mayor actividad acuícola. Tomado de Situación actual de la acuicultura en el Perú (PRODUCE, 2008).

La acuicultura viene emergiendo como un rubro de producción económica importante por las condiciones que ofrece el territorio peruano en cuanto al clima y gran extensión de los espejos de agua propicios para la actividad acuícola (PRODUCE, 2009). Un importante avance constituye el Plan Nacional de Desarrollo Acuícola cuyos objetivos se orientan principalmente a incrementar la calidad, productividad y el volumen de producción acuícola comercializado a nivel nacional e internacional (MINAM, 2011).

La trucha Arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), el pez más cultivado en el Perú, es una especie introducida que se ha adaptado bien a las condiciones climáticas de aguas frías de la sierra peruana. El cultivo se realiza en estanques de tierra y en jaulas flotantes en lagos como el Titicaca y las lagunas altoandinas (PRODUCE, 2010a).

Desde el 2001 la cosecha de truchas ha ido en aumento año tras año. En el 2010, el Perú ocupó el séptimo lugar como productor acuícola con 3,46% de participación mundial (FAO, 2012) (Cuadro 1), lo que representó una producción de 14250 TM (Cuadro 2 y Figura 2) que se destinaron al mercado interno (Cuadro 3) y a la exportación (Figura 3), esta última por un valor de 5,9 millones de dólares americanos. El departamento de Cajamarca ocupó el sexto lugar en la producción nacional con 263,17 toneladas en el año 2010 (PRODUCE, 2010a).

Cuadro 1. Los principales productores acuícolas por regiones y a nivel mundial en 2010. Tomado de El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2012 (FAO, 2012).

América	Tonelada	Porcentaje	Mundo	Tonelada	Porcentaje
Chile	701 062	27,21	China	36 734 215	61,35
E.U.A.	495 499	19,23	India	4 648 851	7,76
Brasil	479 399	18,61	Viet Nam	2 671 800	4,46
Ecuador	271 919	10,55	Indonesia	2 304 828	3,85
Canadá	160 924	6,25	Bangladesh	1 308 515	2,19
México	126 240	4,90	Tailandia	1 286 122	2,15
Perú	89 021	3,46	Noruega	1 008 010	1,68
Colombia	80 367	3,12	Egipto	919 585	1,54
Cuba	31 422	1,22	Myanmar	850 697	1,42
Honduras	27 509	1,07	Filipinas	744 695	1,24
Otros	113 067	4,39	Otros	7 395 281	12,35
Total	2 576 428	100	Total	59 872 600	100

Estos cultivos han prosperado gracias a la disponibilidad de agua de buena calidad, oferta de alimentos balanceados, facilidad de importación de la semilla y disponibilidad de recursos humanos capacitados; sin embargo, en algunos lugares los desechos de la minería y la agricultura contaminan dichas aguas y se pueden añadir a problemas como la insuficiente producción local de semilla de buena calidad, con características de acuerdo a las necesidades de los truchicultores, así como a la escasa infraestructura de plantas de procesamiento y frío post cosecha, el incremento en los costos de alimento balanceado y las condiciones difíciles de transporte y comunicaciones (PRODUCE, 2009).

Un estudio de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO por sus siglas en inglés de *Food and Agriculture Organization*) elaborado a inicios del 2009, trató de hacer una estimación cuantitativa del crecimiento que podría experimentar la producción acuícola peruana en los próximos años. No fue posible basar la estimación en estudios económicos sobre la acuicultura porque estos no existen, pero sí se pudo hacer un análisis de los datos estadísticos y realizar una encuesta con medio centenar de respuestas y consultas directas de productores, funcionarios públicos, investigadores, exportadores, comerciantes y otros expertos relacionados con la acuicultura. La proyección de los datos ofrecidos por las estadísticas oficiales brindó una cifra de producción de 83 mil toneladas para el año 2015 (PRODUCE, 2004 y 2009).

Cuadro2. Perú: Cosecha de recursos hidrobiológicos procedentes de la actividad de acuicultura por ámbito y según especie, 2001-10. Tomado de Anuario Estadístico 2010 (PRODUCE, 2010a).

Ámbito / Especie	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
<b>Total</b>	<b>7 539</b>	<b>11 534</b>	<b>13 610</b>	<b>22 114</b>	<b>25 978</b>	<b>28 387</b>	<b>39 531</b>	<b>43 119</b>	<b>44 317</b>	<b>89 021</b>
<b>Continental</b>	<b>2 872</b>	<b>3 231</b>	<b>3 601</b>	<b>6 550</b>	<b>6 586</b>	<b>6 793</b>	<b>9 348</b>	<b>14 986</b>	<b>14 837</b>	<b>17 320</b>
Boquichico	7	6	103	82	60	12	15	25	27	36
Camarón Gigante de Malasia	6	7	8	11	18	11	4	6	11	15
Carachama	-	1	0	0	0	0	1	4	1	22
Carpa	10	6	0	1	3	11	13	15	15	19
Gamitana	20	54	203	241	251	344	414	539	564	680
Paco	20	36	9	6	43	38	34	71	75	101
Pacotana	-	4	6	3	17	6	86	59	12	3
Paiche	-	-	0	2	14	2	-	1	3	48
Tilapia	223	122	112	1 326	619	494	1 741	1 714	1 261	2 013
Trucha	2 586	2 981	3 111	4 699	5 475	5 794	6 997	12 497	12 817	14 250
Sabalo	-	10	45	177	85	78	41	52	49	114
Otros	-	4	4	2	1	3	2	3	2	19
<b>Marítimo</b>	<b>4 667</b>	<b>8 303</b>	<b>10 009</b>	<b>15 564</b>	<b>19 392</b>	<b>21 594</b>	<b>30 183</b>	<b>28 133</b>	<b>29 480</b>	<b>71 701</b>
Concha de Abanico	3 913	5 701	6 670	10 485	11 065	12 337	18 518	14 802	16 047	58 101
Langostino	731	2 593	3 328	5 073	8 324	9 257	11 657	13 314	13 425	13 598
Ostras del Pacífico	8	9	11	6	3	-	-	-	-	-
Otros	15	-	-	-	-	-	8	17	8	2

Nota: En el 2010 la cosecha de concha de abanico incluye lo procedente de Parachique, lo cual correspondiente a las asociaciones formalizadas a fines del periodo 2009 e inicio del 2010. Los totales se han reajustado debido a las correcciones en la especie trucha para el 2000 y 2001 y a la no inclusión de las especies provenientes de repoblamiento (Pejerrey y Abalon). "0" Corresponde a cifras menores que 0.5 TM.

Fuente: Direcciones Regionales de Producción (DIREPRO) y Empresas Acuícolas

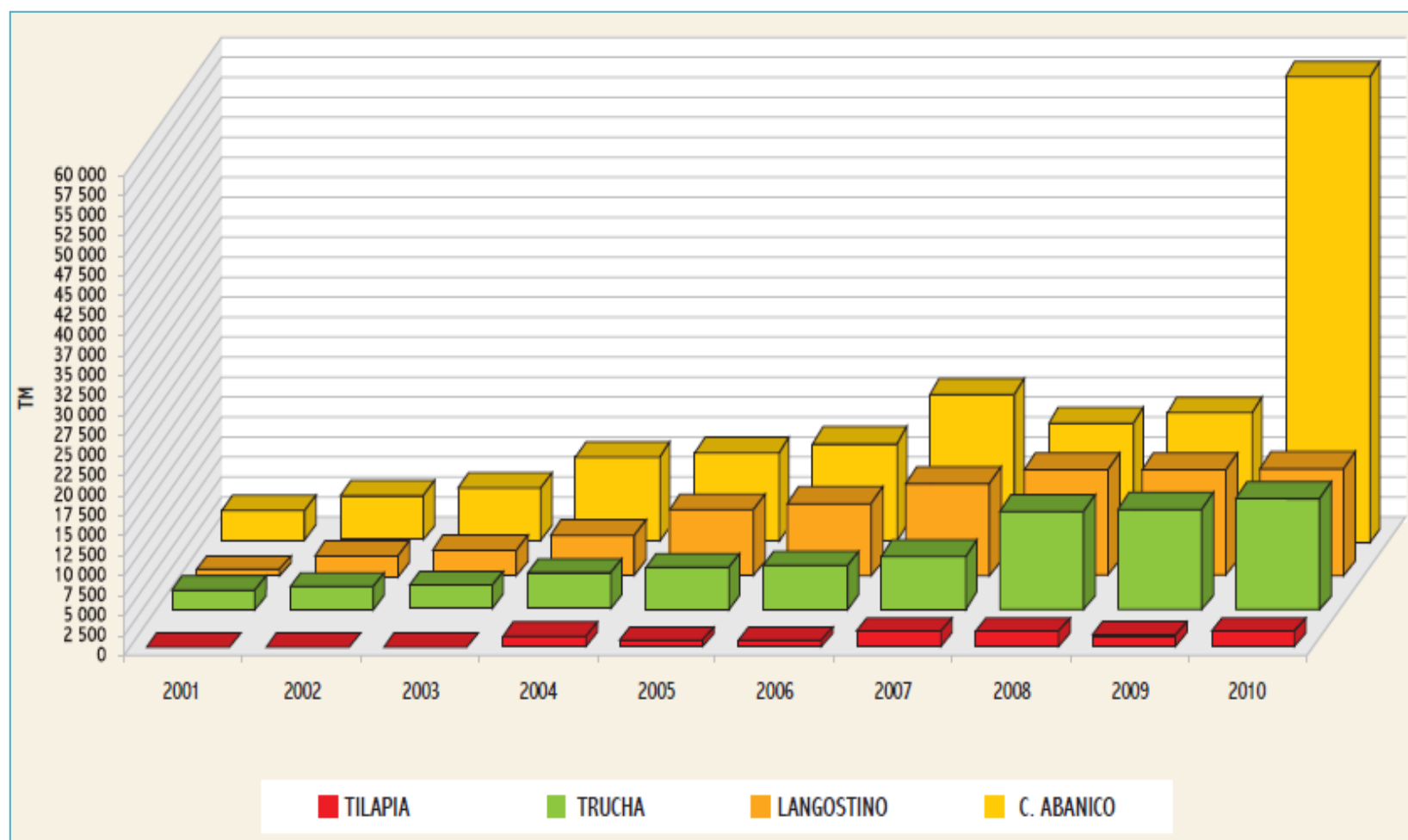


Figura 2. Perú: Cosecha de recursos hidrobiológicos procedentes de la actividad de acuicultura, 2001 – 10. Tomado de Anuario Estadístico 2010 (PRODUCE, 2010a).

Cuadro3. Perú: Venta interna de recursos hidrobiológicos procedentes de la actividad de acuicultura según especie, 2010 (TM). Tomado de Anuario Estadístico 2010 (PRODUCE, 2010a).

Especie	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
<b>Total</b>	<b>2 050</b>	<b>3 785</b>	<b>1 747</b>	<b>5 949</b>	<b>5 793</b>	<b>6 033</b>	<b>8 954</b>	<b>13 603</b>	<b>15 981</b>	<b>15 355</b>
<b>Continental</b>	<b>1 063</b>	<b>2 439</b>	<b>1 506</b>	<b>5 754</b>	<b>5 524</b>	<b>5 682</b>	<b>8 073</b>	<b>10 876</b>	<b>13 375</b>	<b>14 738</b>
Boquichico	7	6	103	82	60	12	15	25	27	36
Camarón Gigante de Malasia	6	7	8	11	18	11	4	6	11	15
Carachama	-	1	0	0	0	0	1	4	1	22
Carpa	10	6	0	1	3	11	13	15	15	19
Gamitana	20	54	203	241	251	344	414	538	564	680
Paco	20	36	9	6	43	38	34	71	75	101
Pacotana	-	4	6	3	17	6	86	59	12	3
Paiche	-	-	0	2	14	2	-	1	3	48
Tilapia	223	122	112	1 326	619	494	1 741	928	777	1 417
Trucha	777	2 189	1 016	3 903	4 413	4 683	5 722	9 174	11 839	12 264
Sábalo	-	10	45	177	85	78	41	52	49	114
Otros	-	4	4	2	1	3	2	3	2	19
<b>Marítimo</b>	<b>987,00</b>	<b>1 346,00</b>	<b>241,00</b>	<b>195,00</b>	<b>269,00</b>	<b>351,00</b>	<b>881</b>	<b>2 727</b>	<b>2 606</b>	<b>617</b>
Concha de Abanico	911	1 244	128	117	61	62	398	2058	1 659	208
Langostino	53	93	102	72	205	289	475	669	939	407
Ostras del Pacífico	8	9	11	6	3	-	-	-	-	-
Otros	15	-	-	-	-	-	8	-	8	2

Nota: "0" corresponde a cifras menores a 0,5 TM.  
Fuente: Direcciones Regionales de Producción (DIREPRO) y Empresas Acuícolas

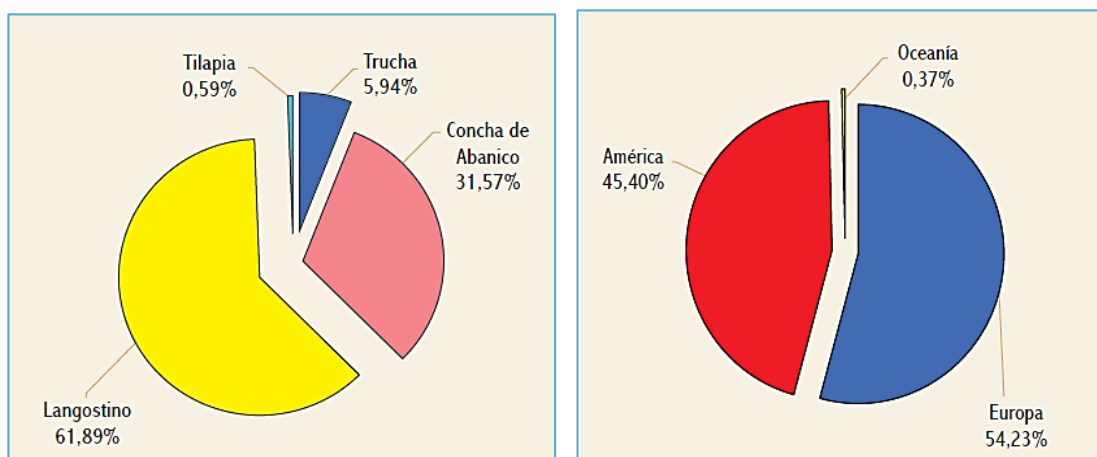


Figura 3. Izquierda. Perú: Exportación de recursos hidrobiológicos procedentes de la actividad de acuicultura según especie, 2010. Derecha: Perú: Exportación de recursos hidrobiológicos procedentes de la actividad de acuicultura según continente, 2010. Tomado de Anuario Estadístico 2010 (PRODUCE, 2010a).

## 2.2. Aspectos generales en la acuicultura de la trucha Arcoíris

La trucha introducida en el Perú, presenta un comportamiento de hábito alimenticio de omnívoro bien definido. Durante su ciclo de desarrollo natural se alimenta indistintamente y alternativamente de vegetales (fitófago) y zooplancton (zooplantófago) y todo tipo de alimento que pueda encontrar en el ambiente acuático; es decir, de acuerdo a las posibilidades de alimento que presente el recurso hídrico (PRODUCE, 2010b).

El cultivo de la trucha se lleva a cabo tanto en ambientes convencionales (estanques de concreto, mampostería de piedra o estanques de tierra) como en lagunas donde se emplean jaulas flotantes de malla sintética o metálica con dimensiones de acuerdo a la producción proyectada por el piscicultor (PRODUCE, 2010b). El ciclo de producción de la trucha abarca un periodo de 7-14 meses, comprendiendo desde la etapa de ova embrionada (óvulo fecundado) hasta la etapa de adulto comercial, que en el mercado nacional peruano es cuando el pez alcanza un peso promedio de entre 200 a 300 g (PRODUCE, 2004).

En la crianza de truchas, las condiciones físico-químicas del agua son fundamentales, tanto en la calidad como en la cantidad apropiada, es decir que el requerimiento de caudal de agua deberá ser suficiente y permanente durante todo el año, con la finalidad de mantener un flujo constante de agua a los estanques para la renovación y recambio del oxígeno disuelto en forma permanente; además, los ríos y lagunas utilizados en el cultivo de la trucha deben presentar poca turbidez y la procedencia de las aguas deben ser de origen de manantial (PRODUCE, 2010b).



La calidad del agua donde habitan los peces de cultivo debe ser controlada de manera periódica para garantizar el máximo desarrollo y crecimiento saludable de los mismos. Es así, que se contempla tener los siguientes parámetros: temperatura de 10-15°C, transparencia del agua, oxígeno disuelto de 7-9 mg/L, potencial de hidrógeno (pH) de 7-9, dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) de 0-4 mg/L, alcalinidad o sales de carbonato de calcio (CaCO<sub>3</sub>) de 150-180 mg/L, dureza total de 50-250 mg/L y, además hacer controles de la flora y fauna del cuerpo de agua, principalmente de zooplancton (PRODUCE, 2004).

### 2.3. Contaminación del ambiente acuático

Se entiende por contaminación a la presencia de sustancias y calor en los medios ambientales (aire, agua y tierra) cuya naturaleza, localización o cantidad produce efectos perjudiciales en el medio ambiente, dichas sustancias se consideran contaminantes tóxicos; otra definición de contaminación también se aplica a la actividad que genera agentes contaminantes (INEI, 2011), los cuales pueden ser de origen natural o antropogénico (Figura 4).

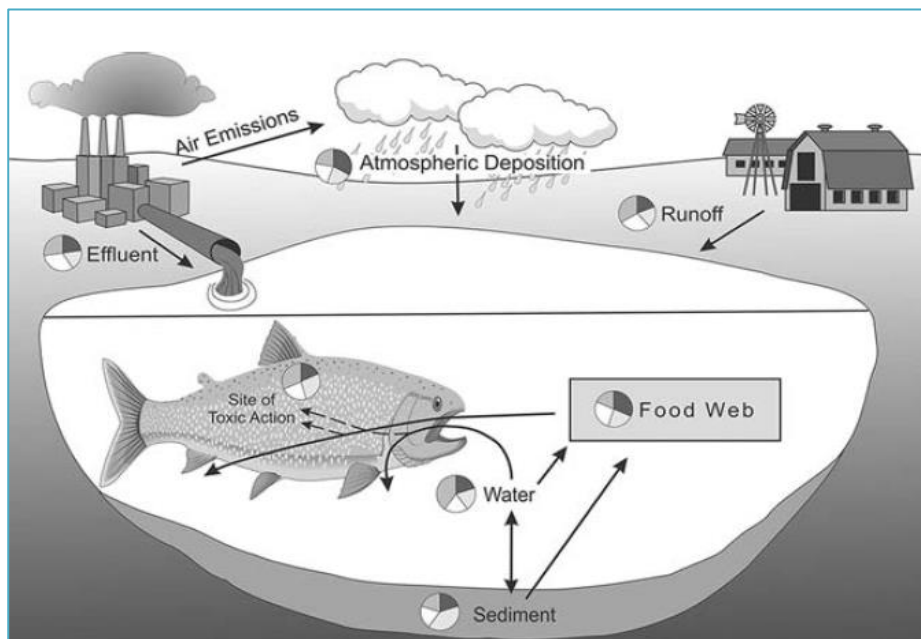


Figura 4. Ingreso de sustancias químicas y su distribución dentro de los sistemas acuáticos, enfatizando la bioacumulación por el pez. El grafico circular representa cualitativamente la especiación química y como difiere entre los compartimentos del sistema. Esquema tomado de Russell *et al.* (2008).

Dentro de los contaminantes tóxicos, podemos mencionar a los metales pesados, disolventes, pesticidas, herbicidas, productos industriales, detergentes, aceites y combustibles, como los más peligrosos cuyos efectos más graves ocurren cuando entran al ambiente (Figura 4) y se rebasa la capacidad de los ecosistemas para asimilarlos o degradarlos (Albert, 1997), alterando su ciclo natural al producir concentraciones elevadas en algún compartimento particular (Tulonen *et al.*, 2006) (Figura 5).

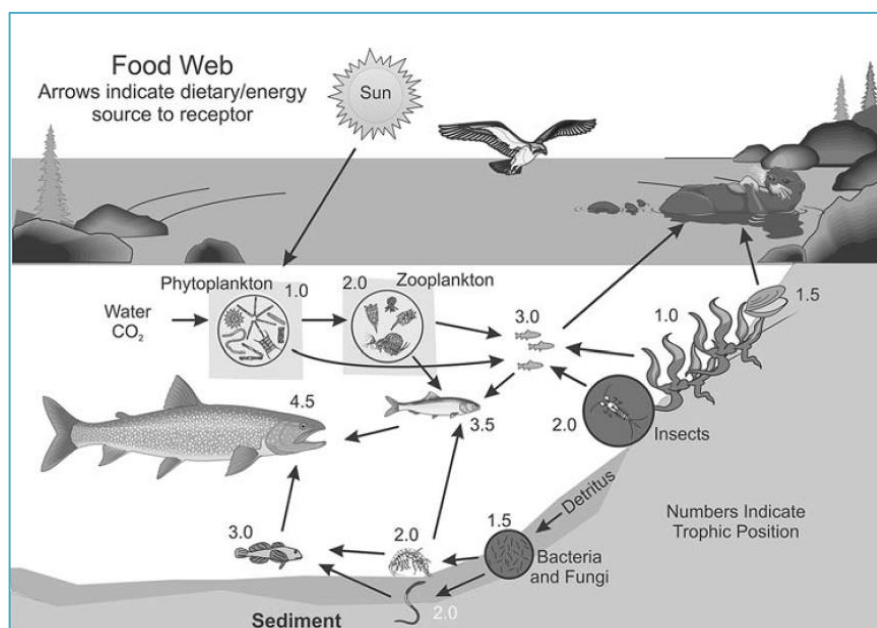


Figura 5. Movimiento de sustancias químicas a través de la cadena alimenticia acuática. Los números indican el nivel trófico del organismo. Esquema tomado de TheToxicology of Fishes (Russell *et al.*, 2008).

### 2.3.1. Impacto de la minería aurífera a tajo o cielo abierto

El Perú tiene una notable historia minera desde la época preincaica, donde se destacaba el uso de los metales en su orfebrería. En los últimos años, el Perú se ha posicionado a nivel mundial como el segundo productor de plata, zinc y cobre, y como el sexto productor de oro (USGS, 2012) siendo esta actividad uno de los sectores más importantes de la economía nacional donde departamentos, como Cajamarca, Ancash y Junín, son los que concentran mayor actividad.

Cajamarca es el primer productor de oro con 31,89% de participación a nivel nacional (MINEM, 2009); sin embargo, ineludiblemente se generan residuos contaminantes que afectan el aire, fuentes de agua y seres vivos (INEI, 2011). Así, por ejemplo, el desarrollo de actividades

informales como la minería afectaron la calidad de los ríos, identificándose como los más críticos a los ríos Rímac, Mantaro, Madre de Dios, Chili, Santa, Chira, Piura y Llaucano (MINAG, 2010).

Kussmaul (1989), citado por AECO-AT (2001), menciona que el impacto ambiental provocado por cualquier actividad minera se relaciona con cuatro factores principales: (1) tamaño de la explotación (superficie, profundidad, volumen de producción), (2) localización (en ambientes naturales, productivos, urbanos o su combinación), (3) métodos de explotación y (4) características de los minerales y su concentración en el yacimiento. Los cuatro factores contribuyen a la movilización y por ende al incremento de la concentración de minerales (Vila *et al.*, 1997; Arcos, 1998) en el medio ambiente.

Las emisiones mineras alteran el pH y la alcalinidad de las aguas de escorrentía (INEI, 1998). Por ello, minas a tajo abierto que ocupan grandes áreas, así como también la acumulación de minerales expuestos a las lluvias, propician el contacto de las aguas con el mineral y con el suelo, potenciando procesos físicos, tales como la erosión, o procesos químicos como la oxidación de los sulfuros, causantes del drenaje ácido, lixiviación<sup>1</sup>, etc. (Sánchez, 1995).

La minería aurífera en Cajamarca (Figura 6) se desarrolla cercaa un conjunto de lagunas, entre ellas Mamacocha, y se realiza a tajo abierto empleando la solución de cianuro para la extracción de oro. Se sabe que el cianuro es usado en la minería en una primera etapa para disolver el oro; posteriormente, la solución disuelta de oro y cianuro entra a una segunda etapa llamada Merrill-Crowe, donde se adicionan polvos de zinc y sales de plomo para precipitar y recuperar el oro. Al final del proceso, se genera el cianuro estéril (*barren solution*) y el descarte (*slag material*) que contiene los metales pesados. Estos desperdicios son descargados en pilas de desecho (AECO-AT, 2001).

Se considera que, en términos sociales y ambientales, la minería a cielo abierto es una de las actividades industriales de mayor impacto ambiental. Cada una de sus etapas (prospección y exploración de yacimientos, desarrollo y preparación de las minas, explotación y tratamiento de los minerales, y cierre) genera impactos ambientales específicos (Vaughan, 1989, citado por AECO-AT, 2001).

---

<sup>1</sup>Proceso mediante el cual se lava una sustancia pulverizada con el objetivo de extraer de ella las partes que resulten solubles (SNMPE, 2007).



Figura 6. Unidades mineras en producción y proyectos en exploración en el departamento de Cajamarca – Perú (ampliación del mapa original). Tomado de MINEM-Perú, abril 2012.

La Federación Nacional de Vida Silvestre (*National Wildlife Federation*) de los Estados Unidos (Alberswerth *et al.*, 1992) señaló en un amplio estudio que las minas que utilizan la extracción por lixiviación con cianuro son bombas de tiempo para el medio ambiente; además, citó los siguientes dos párrafos:

- Que después de la lixiviación, el cúmulo de mineral ya procesado contiene todavía vestigios de la altamente tóxica solución de cianuro, así como de metales pesados concentrados que han sido precipitados del mineral. Muchas operaciones optan por tratar los desechos contaminados con cianuro enjuagando con agua fresca el cúmulo hasta que la concentración de cianuro baje a un nivel inferior al máximo permitido (este nivel varía entre los estados y países). Una vez que la concentración de cianuro baja al nivel permitido, normalmente se deja en el lugar el material ya procesado, se compacta y puede que se haga o el esfuerzo de reconstruir ecológicamente el sitio.

- Si no se enjuaga totalmente el mineral usado y la roca de desecho, o si se le deja sin tratar, el cianuro puede seguir filtrándose al medio ambiente. Tanto el cianuro como los metales pesados liberados por él (entre ellos se encuentran arsénico, antimonio, cadmio, cromo, plomo,

níquel, selenio, talio) y otras sustancias tóxicas que se encuentran en el cúmulo y los lixiviados (por ejemplo sulfuros), son una amenaza para las quebradas, ríos o lagos, para las fuentes subterráneas de agua y para los peces, la vida silvestre y las plantas.

Los problemas a largo plazo derivados de la lixiviación de metales pesados de los cúmulos de desechos de las operaciones que utilizan la extracción por lixiviación con cianuro probablemente exceden el impacto directo del cianuro en sí (Hocker, 1989); por otro lado, cuando ocurren reacciones de oxidación se generan ácidos, se oxidan los sulfuros a sulfatos y se liberan metales presentes en la roca, principalmente hierro, manganeso y cobre; razón por la cual este tipo de metales son los que se encuentran más expuestos al medio. Igualmente, se liberan otros metales como arsénico, bario, cadmio, zinc, níquel y plomo; pero, en concentraciones reducidas. Estos minerales también son elementos importantes entre los residuos mineros, debido a que por lixiviación pueden llegar a contaminar las aguas superficiales y subterráneas (Sánchez, 1995; Roa, 2001).

La contaminación acuática por la minería, en el ámbito peruano, se mencionó en la crianza de camarones en los ríos Pativilca, Pisco, Ocoña, Camaná y Majes, y la crianza de truchas, bagres y ranas en el río Curias y laguna Azulcocha de Junín (INEI, 1998). Recientemente, en el mes de abril del año 2013, la Universidad del Altiplano de Puno dio a conocer los resultados obtenidos sobre la muerte masiva de peces en el lago Titicaca, se concluyó que fue debido a la alteración en la temperatura y oxígeno del agua, y además se halló selenio, telurio y plomo, como elementos tóxicos, en concentraciones por encima del límite máximo permisible (LMP).

En el Perú, los LMP de metales pesados y otras sustancias tóxicas en agua están dadas en los Estándares Nacionales de Calidad Ambiental para Aguas ECA (MINAM, 2008) que regulan la calidad del líquido para diferentes usos, la categoría cuatro de este reglamento, conservación del ambiente acuático, contempla LMP en lagunas y lagos. Por otro lado, no existe un reglamento nacional que establezca LMP para metales pesados en sedimento como si lo hay en países como Canadá con la Guía de Calidad Ambiental Canadiense (*Canadian Environmental Quality Guidelines* por sus siglas en inglés de CEQGs, 1999).

Los LMP en alimento, a nivel nacional, son dados por el ITP (2002) e incluye algunos metales pesados para la acuicultura; mientras, a nivel internacional, la Unión Europea (EU, 2006), estableció LMP de metales pesados en varios alimentos, incluyendo el pescado, de valores similares a los de Canadá (CFIA, 2011), y a la norma brasileña y australiana (MINECO, 2011). El nivel máximo tolerable en la dieta de minerales esenciales en el hombre son dados por la Academia Nacional de Ciencias Estadounidense (NAS, 2001) y la Autoridad Sanitaria de Alimentos Europea (EFSA, 2006).

### 2.3.2. Metales pesados en el cuerpo de agua

Las aguas superficiales y subterráneas contienen siempre en estado natural una serie de sales disueltas, éstas se originan por el contacto del agua en movimiento con los diversos materiales del suelo y subsuelo. De la misma forma, el agua recoge materia orgánica natural de las hojas, hierbas y vegetación en diversos estados de biodegradación y, diluye gases atmosféricos. El resultado de estos contactos es que el agua acumula ciertas cantidades de impurezas naturales por disolución o reacción química seguida de disolución (Hem, 1961).

En aguas superficiales, los metales pesados existen en forma de coloides, partículas, y como fases disueltas, aunque debido a su baja solubilidad estas últimas suelen presentar concentraciones muy bajas en forma iónica o complejos organometálicos. En las formas coloidales y partículas los metales pesados aparecen como hidróxidos, óxidos, silicatos, sulfuros, o adsorbidos en minerales del grupo de arcillas, sílice y materia orgánica. La solubilidad de los metales pesados en las aguas superficiales está controlada por el pH, el tipo de ligantes en los que se encuentran adsorbidos, el estado de oxidación de las fases minerales y el ambiente redox del sistema (Connell *et al*, 1984).

En las aguas subterráneas, el comportamiento de los metales pesados es función de la composición del acuífero, la composición de la materia en suspensión y la composición química del agua. De este modo los acuíferos con mayores niveles de metales adsorbidos serán aquellos constituidos por arenas finas y limos. Además, los metales pesados tienen una gran afinidad por los ácidos húmicos, arcillas orgánicas y óxidos cubiertos de materia orgánica (McCullough *et al.*, 1999).

La química del agua controla la tasa de adsorción/desorción de los metales hacia y desde el acuífero. La adsorción elimina el metal del agua y lo almacena en el acuífero, mientras que la desorción devuelve los metales al agua, favoreciendo su movilización. La desorción de los metales suele producirse debido a los siguientes cambios físico-químicos en el agua: (1) aumento de la salinidad, que produce una competitividad entre los metales y los cationes, (2) disminución del potencial redox, que se da normalmente bajo condiciones deficitarias de oxígeno, y (3) disminución del pH, que provoca un incremento de la competitividad entre los metales y los iones hidrógeno, además de producirse una disolución de los complejo metal-carbonato, liberándose los iones del metal en el agua. Una inversión de estas condiciones favorece la adsorción de metales por los minerales del acuífero (López *et al.*, 2001).

La concentración natural de metales en los ecosistemas acuáticos dependen de su distribución, meteorización<sup>2</sup> y lixiviación en el área de la cuenca hidrográfica al que pertenece (Tulonen *et al.*, 2006); sin embargo, los niveles naturales en el ambiente acuático se han incrementado debido a la actividad antropogénica que libera contaminantes de forma doméstica, industrial, minera y agrícola, en concentraciones que no permiten la utilización posterior del agua debido a los cambios físico-químicos y a los efectos devastadores sobre el equilibrio ecológico del medio ambiente receptor (Vosyliene y Jankaite, 2006; Farombi *et al.*, 2007; Russell *et al.*, 2008; Chung, 2011).

Algunos productos químicos antropogénicos son poco probable que entren en el medio acuático debido a la forma en que se utilizan. En otros casos, los procesos de degradación, tales como el metabolismo microbiano, la hidrólisis acuosa, o fotólisis, disminuyen notablemente las concentraciones de las sustancias químicas antes o después de entrar en los sistemas acuáticos, reduciendo así la probabilidad de exposición significativa de los organismos acuáticos (Russell *et al.*, 2008).

Aunque asociamos a los metales pesados con la contaminación directa del agua y los alimentos mediante vertidos, en realidad son transportados en su mayor parte de un lugar a otro a través del aire, como gases o especies absorbidas, o como especies adsorbidas en las partículas materiales suspendidas. Así, por ejemplo, cerca de la mitad de la entrada de metales pesados en los Grandes Lagos (grupo de cinco lagos en la frontera entre Canadá y Estados Unidos) es debida a la deposición desde el aire (Baird, 2001); además, los lagos son considerados más sensibles a la contaminación debido a que remueven su contenido relativamente más lento (USEPA, 1994) a comparación de los mares y ríos.

### **2.3.3. Metales pesados en el sedimento**

La materia particulada que yace por debajo del agua en lagos, manantiales, arroyos, ríos y otros sistemas acuáticos se llama sedimento (ASTM, 2003), y es producto de la acumulación de materiales arrastrados, o bien producidos en el mismo cuerpo de agua. La velocidad con que se acumulan, expresa la actividad de un cuerpo de agua como receptor de contaminantes y como centro de actividad biológica (Margalef, 1983).

---

<sup>2</sup>Conjunto de factores externos (procesos geodinámicos exógenos) que intervienen sobre una roca produciendo alteraciones mecánicas y químicas. Los agentes de meteorización son el agua pluvial, el agua de escorrentía, el agua lacustre, el agua de mar, el hielo, el viento, el clima, la temperatura solar, etc. (Dávila, 2011).

El sedimento representa los elementos esenciales del ecosistema acuático debido a que soportan a importantes organismos autótrofos y heterótrofos como bacterias, invertebrados bentónicos, peces, anfibios y reptiles. Las aves y mamíferos también pueden representar heterótrofos importantes de la cadena trófica acuática y acuático dependiente (es decir, a través del consumo de organismos acuáticos). Las bacterias son importantes en los ecosistemas acuáticos, ya que descomponen materia orgánica (por ejemplo, los organismos que mueren y se acumulan en la superficie del sedimento, así como productos químicos antropogénicos derivados orgánicos) y, al hacerlo, liberan nutrientes a la columna de agua y aumentan la biomasa bacteriana (USEPA, 1994; MacDonald *et al.*, 2003).

Cuando los contaminantes antropogénicos llegan al sedimento, estos no permanecen fijos en él, sino que procesos de adsorción y desorción se llevan a cabo vía biológica y por agentes químicos (Förstner *et al.*, 1993; Altindag y Yigit, 2005; Harikumar *et al.*, 2009) e incluso por el mismo movimiento del agua, causando que los xenobióticos estén suspendidos en la columna de agua donde pueden ser transferidos a los organismos. Como resultado, los organismos bentónicos, peces, aves y mamíferos pueden ser afectados adversamente por los efectos tóxicos de los sedimentos contaminados (Margalef, 1983; MacDonald *et al.*, 2002) pudiendo dar lugar a una menor supervivencia, menor crecimiento y alteraciones en la reproducción de invertebrados y peces bentónicos (USEPA, 1994; Ingersoll *et al.*, 1997).

La mayor parte de la materia particulada en los medios acuáticos (arcillas, óxidos hidratados metálicos y materia orgánica) poseen una carga negativa neta, que le confiere carácter coloidal. Por tanto, los cationes metálicos son electrostáticamente atraídos hacia su superficie. Algunas de estas partículas, enriquecidas de metales pesados, se hunden hasta depositarse en el fondo. El grado en que tiene lugar este fenómeno depende, entre otros factores, de la naturaleza del metal, la abundancia de materia particulada, la concentración de otros solutos y la profundidad de la columna de agua (Förstner y Witmann, 1981; Förstner *et al.*, 1993; MacDonald *et al.*, 2003).

## **2.4. Metales pesados o metales tóxicos**

El término genérico de "metales pesados" incluye una serie de elementos que en alguna de sus formas pueden representar un serio problema medioambiental; sin embargo, el término metal pesado nunca ha sido definido por alguna autoridad como la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC por sus siglas en inglés de *International Union of Pure and Applied Chemistry*). La razón es porque el término se ha calificado de impreciso debido a que su categorización estaba basada por su densidad mayor de cinco (gravedad específica  $> 5 \text{ g/cm}^3$ ),



la cual es raramente una propiedad biológicamente importante, existiendo además diversas excepciones a esta regla (Duffus, 2002).

Existe el término alternativo “metal tóxico” o “metal asociado a contaminación y toxicidad potencial” (Cornelis y Nordberg, 2007), para el cual tampoco existe consenso de su exacta definición. De manera práctica, se empleará el término común de metal pesado en la presente redacción.

Los metales pesados se encuentran libres y de forma natural en algunos ecosistemas en el que pueden variar su concentración. Se los considera elementos traza ya que se encuentran en baja concentración (mg/kg) en compartimentos determinados como el suelo, plantas, tejidos, agua y sedimento (Galán y Romero, 2008).

Hay varios metales pesados considerados micro y macronutrientes esenciales por mantener un buen estado de salud en el hombre y otros organismos; en consecuencia, son esenciales en el medio acuático en pequeñas cantidades (Mason, 2002) para la función normal de los sistemas biológicos.

Los micronutrientes esenciales, cobalto (Co), cromo (Cr), cobre (Cu), hierro (Fe), manganeso (Mn), molibdeno (Mo), selenio (Se), vanadio (V) y zinc (Zn), se requieren en solo unos mg o µg por día y cuando pasan cierto umbral de concentración, se vuelven tóxicos; tal es el caso del Se y Zn que tienen límites muy próximos entre la dosis requerida y la tóxica. Por otro lado, los macronutrientes tales como calcio (Ca), cloro (Cl), magnesio (Mg), fósforo (P), potasio (K), sodio (Na) y azufre (S), son necesarios a 100 mg o más por día. Los metales pesados no esenciales o sin función biológica conocida, cuya presencia en determinadas cantidades en los seres vivos lleva aparejadas disfunciones en los organismos, son: antimonio (Sb), arsénico (As), berilio (Be), cadmio (Cd), estroncio (Sr), mercurio (Hg), níquel (Ni), plomo (Pb) y titanio (Ti) (Siegel, 2002).

La Agencia de Protección Medioambiental de los Estados Unidos (USEPA por sus siglas en inglés de *United States Environmental Protection Agency*) y la Agencia para el Registro de Enfermedades y Sustancias Tóxicas (ATSDR por sus siglas en inglés de *Agency for Toxic Substances and Disease Registry*) de los Estados Unidos, preparan cada dos años la Lista Nacional Prioritaria (LNP) de sustancias que poseen un significativo riesgo potencial para la salud humana debido a su conocida o sospechosa toxicidad y a su potencial exposición humana. Dicha LNP considera como metales tóxicos a: As, Pb, Hg, Cd, Cr, Ni, Zn, Cu, Ba (Bario), entre otros (ATSDR, 2011) (Cuadro 4).

Cuadro 4. Lista de sustancias prioritarias de la ATSDR 2011(ATSDR, 2011).

ORDEN 2011	NOMBRE SUSTANCIA	PUNTAJE TOTAL	ORDEN 2011	NOMBRE SUSTANCIA	PUNTAJE TOTAL
1	Arsénico	1665,5	10	Benzo(b) fluoranteno	1252,4
2	Plomo	1529,1	17	Cromo (VI)	1146,6
3	Mercurio	1460,9	57	Níquel	998,7
4	Cloruro de vinilo	1361,1	66	Cromo (III)	960,0
5	Bifenilos policlorados	1344,1	75	Zinc	919,1
6	Benceno	1332,0	78	Cromo	897,5
7	Cadmio	1318,7	120	Metilmercurio	806,0
8	Benzo(a)pireno	1305,7	125	Cobre	804,7
9	Hidrocarburos aromáticos policíclicos	1282,3	126	Bario	804,7

#### 2.4.1. Bioacumulación y biomagnificación de metales pesados

La captación de xenobióticos por los peces puede ocurrir por inhalación, ingestión o exposición dérmica, como ocurre en los mamíferos (Figura 7). Del mismo modo, la excreción de xenobióticos por los peces y mamíferos se produce por difusión o transporte a través de las vías respiratorias y superficies de la piel, así como por vías urinaria, biliar y fecal. Aún con estas similitudes, hay algunas obvias y no tan obvias diferencias entre los peces y los mamíferos con respecto a la naturaleza de estas vías, la importancia relativa de cada vía, y los movimientos de xenobióticos en las superficies de intercambio que separan el animal de su entorno (Russell *et al.*, 2008).

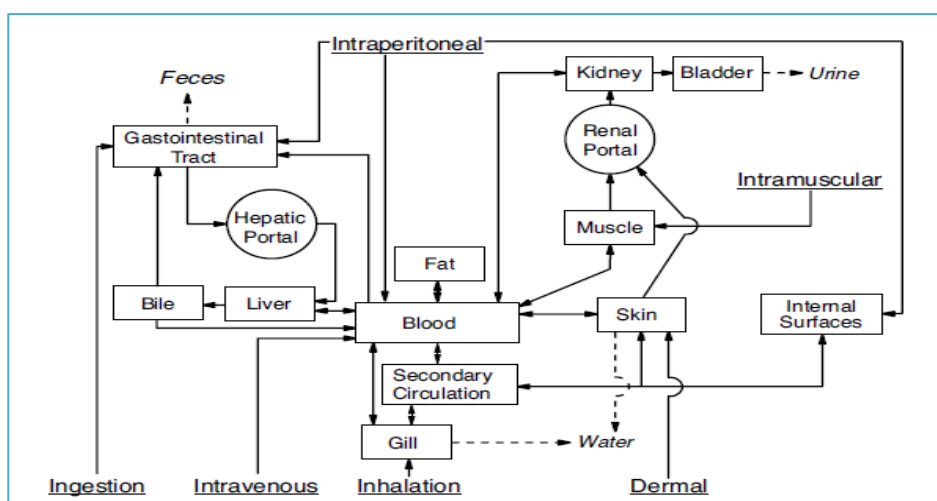


Figura 7. Vías para la absorción, distribución y eliminación de compuestos xenobióticos en peces. Tomado de Russell *et al.* (2008).

El ingreso y acumulación de metales pesados en los organismos depende de factores bióticos y abióticos que los modifican y los hacen biodisponibles, es decir que tienen relativa facilidad para ser transferidos desde el ambiente hacia una localización específica en un organismo de interés (Russell *et al.*, 2008).

En tal sentido, una mayor biodisponibilidad de metales pesados será proporcional a su bioacumulación en un organismo dado, el cual se realiza por todas las rutas posibles de exposición en el medio acuático; así los peces bioacumulan metales pesados tanto por ingestión de alimento contaminado (Dallinger y Kautzky, 1985; Dallinger *et al.*, 1987; Clements, 1992) como por contacto entre su superficie respiratoria y piel con el agua (Olaifa *et al.*, 2004) y sedimento contaminados (Hinton *et al.*, 1992; Russell *et al.*, 2008) (Figura 4).

Este proceso de bioacumulación puede llevar años y cuando un organismo de nivel trófico inferior comienza a bioacumular alguna sustancia el siguiente camino es la biomagnificación que implica la incorporación y retención de metales en organismos de nivel trófico superior (Canli *et al.*, 1998; Chen *et al.*, 2000; Russell *et al.*, 2008) (Figura 5).

A pesar del serio problema que puede generar la biomagnificación en toda la cadena trófica, sólo algunas sustancias presentan tal capacidad, y el único metal pesado que indiscutiblemente es capaz de bioacumularse es el Hg; sin embargo, muchos organismos acuáticos como las ostras y mejillones pueden bioconcentrar niveles de Hg y Cd que son 100,000 veces más grande que los que se encuentran en el agua donde viven (Baird, 2001).

Ambos procesos, bioacumulación y biomagnificación, son específicos para cada metal y taxa, y son dependientes de la fisiología de los organismos, biodisponibilidad del metal en el medio junto a los factores que lo modifican, grado de adaptación en el hábitat, hábitos alimenticios, así como del balance entre la captación y excreción del metal que realiza el organismo (Dallinger *et al.*, 1987; Clements, 1992; Chen *et al.*, 2000).

La bioacumulación de metales pesados puede generar efectos tóxicos multidireccionales en los peces (Russell *et al.*, 2008). La mayoría de ellos apunta al sistema nervioso central, junto a otro sistema de órganos, resultando en cambios neuroendocrinos y de comportamiento que pueden perjudicar la posterior supervivencia o reproducción de animales expuestos (NRC, 1992; USEPA, 1994; Vosyliene y Jankaite, 2006).

Los efectos de la exposición a niveles subletales se puede medir en términos de respuestas bioquímicas, fisiológicas o histológicas del organismo (Mondon *et al.*, 2001; Basa y Rani, 2003; Farombi *et al.*, 2007).

Los biomarcadores histopatológicos son considerados las respuestas biológicas de más alto nivel y, a menudo significa el metabolismo anterior y la unión macromolecular. La mayoría de los productos químicos que son potencialmente genotóxicos requieren activación metabólica a una forma definitiva que se une covalentemente, formando aductos de ADN. Si el aducto no se repara y persiste, consecuentemente los cambios conducen a un proceso de varios pasos que podrían dar lugar a la muerte celular o tal vez al crecimiento anormal y formación tumoral (Figura 8). En este último caso, el biomarcador histopatológico es una respuesta de mayor nivel después de la interacción química y celular. Similarmente, la exposición a una sustancia química ambiental puede inducir la actividad de una enzima específica o isoforma de la enzima. La exposición posterior puede llevar a un aumento del metabolismo por la enzima inducida, lo que resulta en niveles intermedios tóxicos que superan los mecanismos de detoxificación celular. Por lo tanto, la inducción y el metabolismo pueden causar toxicidad celular y la muerte, posteriormente detectada como la necrosis del tejido o la apoptosis (Russell *et al.*, 2008).

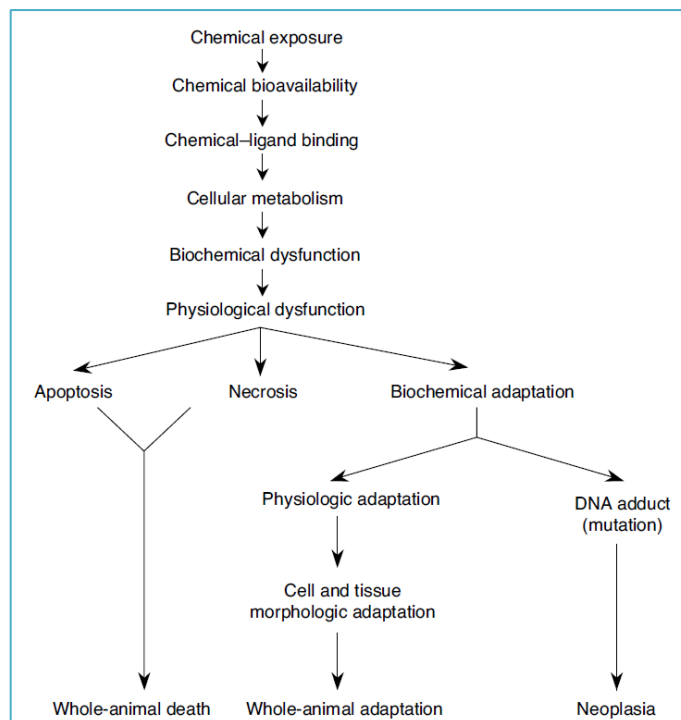


Figura 8. Cascada de alteraciones histopatológicas como resultado de alteraciones bioquímicas y fisiológicas de un organismo. Tomado de Russell *et al.* (2008).

Para el examen histológico, las branquias son el órgano adecuado para observar el efecto de la contaminación porque cubre más del 60% de la superficie de los peces y su ubicación externa lo hace el órgano diana más vulnerable para los contaminantes. La lesión del epitelio

branquial es una respuesta común observada en peces expuestos, mientras la severidad del daño depende de la concentración y período de exposición (Poleksic y Mitrovic-Tutundzic, 1994).

El daño en branquias reduce el consumo de oxígeno e interrumpe la función osmoreguladora de los organismos acuáticos, provocando una disrupción de la regulación iónica en grado variable; por ello, los niveles iónicos plasmáticos pueden ser empleados para cuantificar los efectos tóxicos de los metales durante la exposición (Farombiet *al.*, 2007).

La bioacumulación en distintos órganos se puede explicar bioquímicamente, la acción tóxica de metales pesados, como Hg, Cd, Pb y As, proviene de la fuerte afinidad de sus cationes por el azufre. Así, los grupos sulfhidrilo ( $-SH$ ), los cuales están presentes comúnmente en las enzimas que controlan la velocidad de las reacciones metabólicas críticas en los organismos se enlazan fácilmente a los cationes metálicos ingeridos o a las moléculas que contienen los metales. Debido a que el enlace resultante metal-azufre afecta a toda la enzima, este no puede actuar normalmente y la salud queda afectada adversamente, y a veces de forma fatal. La reacción de los cationes de los metales pesados  $M^{2+}$ , donde M es Hg, Pb o Cd, con las unidades  $-SH$  de las enzimas  $R-S-H$  para producir sistemas estables como el  $R-S-M-S-R$ , es análoga a su reacción con el compuesto simple inorgánico  $H_2S$ , con el que se obtiene el sólido insoluble  $MS$  (Baird, 2001).

Los organismos presentan cierta tolerancia a altas concentraciones de metales pesados y ésta probablemente se deba a la inducción de metalotioneínas (MT), proteínas de bajo peso molecular ricas en cisteína, ellas son indicadoras de biodisponibilidad y por tanto de su toxicidad. Se sabe que la MT secuestra la mayor parte de los iones metálicos libres dentro de la célula, previniendo su unión a grupos  $-SH$  de proteínas funcionalmente importantes, y los efectos tóxicos (Roch *et al.*, 1982; Auro y Ocampo, 1999; Baird, 2001). La exposición de los peces a metales pesados como Zn, Cu, Cd y Hg induce la síntesis de MT en tejido hepático, renal y branquial probablemente como mecanismo de defensa (Roch *et al.*, 1982; Hogstrand y Haux, 1990); pero, una mayor acumulación en hígado puede alterar los niveles de diversos parámetros bioquímicos, con el consiguiente daño hepático (Ferguson, 1989) y generalización de los efectos.

Debido a la alta sensibilidad y tendencia a bioacumular metales pesados, los peces son ampliamente utilizados para evaluar la salud de los ecosistemas acuáticos (Giattina y Garton, 1983; Atchison *et al.*, 1987; Mondon *et al.*, 2001; Kane *et al.*, 2005). Por ello, tiene un papel bioindicador cada vez más importante en el control de la contaminación del ecosistema acuático. La bioacumulación de metales pesados en ríos contaminados se ha demostrado en

algas (Kelly y Whitton, 1989), macroinvertebrados (Krantzberg y Stokes, 1989) y peces (Dallinger y Kautzky, 1985).

## **2.4.2. Arsénico (As)**

### **2.4.2.1. Fuentes y usos**

Los compuestos de As, como el trióxido de As ( $\text{As}_2\text{O}_3$ ), eran los venenos comunes para matar y suicidarse desde los tiempos del Imperio Romano hasta la Edad Media. Los compuestos de As, también tuvieron un amplio uso como pesticidas, farmacéuticos y vidrio, en aplicaciones metalúrgicas y en la fabricación de conservantes de la madera (MacLatchy, 1992; *Government of Canada*, 1993). Aunque su uso en estas aplicaciones ha disminuido, la contaminación por As continua siendo un problema ambiental en algunas áreas del planeta (Baird, 2001).

El As es un constituyente natural de los minerales de Pb, Zn, Au y Cu. Fenómenos naturales tales como la meteorización, la actividad biológica y la actividad volcánica junto con las aportaciones antropogénicas son las responsables de la emisión de As a la atmósfera, desde donde se redistribuye a la superficie de la tierra mediante la lluvia (Eisler, 1988; Cullen y Reimer, 1989; CCME, 1999).

Los niveles de As total en aguas superficiales no contaminadas son por lo general menores a  $2 \mu\text{g/L}$  (*Government of Canada*, 1993). La mayor fuente natural que ingresa en las aguas es de las rocas y suelos erosionados (Nriagu, 1989), mientras que a través de la calcinación de menas de oro arsenioso se produce  $\text{As}_2\text{O}_3$  (*Government of Canada*, 1993).

La disminución mundial en la producción de As desde la década de los ochenta es atribuida a la creciente concientización sobre las consecuencias ambientales del uso de productos conteniendo este elemento; sin embargo, el As todavía ingresa al ambiente acuático desde fuentes naturales y antropogénicas a través de la deposición aérea o escorrentía (CCME, 1999).

### **2.4.2.2. Propiedades químicas y bioquímicas**

El As es un metaloide estable en cuatro estados de oxidación (+5, +3, 0 y -3) que pueden coexistir en sistemas acuáticos con una variedad de formas orgánicas e inorgánicas. La forma dominante en los sistemas de agua dulce y marina es el arseniato ( $\text{As}^{5+}$ ;  $\text{AsO}_4^{3-}$ ), otras formas que también pueden presentarse es el arsenito ( $\text{As}^{3+}$ ;  $\text{AsO}_3^{3-}$ ) y las especies orgánicas como el ácido monometilarsónico, ácidodimetilarsínico y arsenobetaína (Ferguson y Gavis, 1972; Cullen y Reimer, 1989; Shiomi, 1994).

Las especies de este metaloide en suelos inundados y agua, están sujetas a la oxidación o reducción y reacciones mediadas por metilación química y microbiológica. Así, a valores altos de Eh (potencial de oxidación o capacidad para reducirse) se encuentra que en aguas oxigenadas, el As(+5) tiende a existir como  $\text{H}_3\text{AsO}_4$ ,  $\text{H}_2\text{AsO}_4^-$ ,  $\text{HAsO}_4^{2-}$  y  $\text{AsO}_4^{3-}$ ; mientras que a bajo Eh, las especies de As(+3) pueden estar presentes, como  $\text{AsS}_2$ , (Thanabalasingam y Pickering, 1986). Por otro lado, en suelos aeróbicos, Haswell *et al.* (1985) encontró que las especies dominantes fueron As(+5) con pequeñas cantidades de arsenito y ácido monometilarsénico en zonas mineralizadas; en tanto en suelos anaeróbicos, el As(+3) fue la especie más soluble.

El As inorgánico es más móvil que el orgánico, por lo que plantea mayores problemas por lixiviación en aguas superficiales y subterráneas (NRCC, 1978). En los ríos, aproximadamente dos tercios del total de As es soluble y un tercio es adsorbido por sólidos suspendidos (Reuther, 1986). Las especies de As(+3) se consideran en general más tóxicas, más solubles y más móviles que As(+5) (Thanabalasingam y Pickering, 1986).

La formación de As(+5) inorgánico, especie más común en agua, se ve favorecida por condiciones de alto oxígeno disuelto, pH básico, alto Eh, y bajo contenido de materia orgánica; condiciones opuestas generalmente favorecen la formación de arsenitos y sulfuros de As (NRCC, 1978); asimismo, los niveles naturales de aniones polivalentes contribuyen a altos niveles en agua o movilidad, especialmente, especies de fosfatos que desplazan el As unido a los ácidos húmicos y los adsorbe fuertemente en óxidos hidratados de arseniats (Thanabalasingam y Pickering, 1986; Reuther, 1992).

Los procesos físicos juegan un papel clave en la biodisponibilidad de As en ambientes acuáticos, por ejemplo, los arseniats son fácilmente adsorbidos por el material húmico coloidal en condiciones de alto contenido orgánico, pH y fosfato bajos y contenidos de minerales bajo (USEPA, 1980a; Thanabalasingam y Pickering, 1986). Los arseniats también coprecipitan con o se adsorben en hidróxidos de Fe y forma precipitados insolubles con Ca, S, aluminio (Al), y compuestos de Ba (USEPA, 1980a; *Government of Canada*, 1993).

En ambientes reducidos, como sedimentos, el arseniato se reduce a arsenito y es metilado a ácido metilarsénico o dimetilarsénico, estos compuestos pueden ser metilados otra vez a trimetilarsénico o reducido a dimetilarsénico, y puede volatilizarse y oxidarse resultando en ácido dimetilarsénico (Woolson, 1975). Los arseniats son más fuertemente adsorbidos a los sedimentos que otras formas de As y dependen en gran medida de su concentración, características del sedimento, pH y concentración iónica de otros compuestos (USEPA, 1980a).

Un mecanismo importante de adsorción en los sedimentos de lagos implica la interacción de arseniatos aniónicos e hidróxidos de Fe, así como los hidróxidos de Mn ( $Mn^{2+}$ ) (Takamatsu *et al.*, 1985). Los microorganismos (incluyendo cuatro especies de hongos) en los sedimentos de lagos oxidan el As(+3) a As(+5) y reducen el As(+5) a As(+3) bajo condiciones aeróbicas; entanto, bajo condiciones anaeróbicas, sólo se observa la reducción (Freeman *et al.*, 1986).

Muchos investigadores, de acuerdo a Esiler (1988), (Woolson, 1975; NRCC, 1978; Pershagen y Vahter, 1979; Shiomi, 1994; Albert, 1997) están de acuerdo en los siguientes puntos: (1) el As puede ser absorbido por ingestión, inhalación, o por la permeabilidad de piel, branquias o membranas mucosas; (2) las células acumulan As mediante el uso de un sistema de transporte activo que se usa normalmente en el transporte de fosfato; (3) los arsenicales se absorben fácilmente después de la ingestión, la mayor parte se excreta rápidamente en la orina durante los primeros días, o como mucho a la semana; (4) la toxicidad de los compuestos de As es por el siguiente orden, de mayor a menor toxicidad: arsinas > arsenitos inorgánicos > compuestos trivalentes orgánicos (arsenóxidos) > arseniatos inorgánicos > compuestos pentavalentes orgánicos > compuestos arsonio > As elemental; (5) la solubilidad en agua y los fluidos corporales parece estar directamente relacionada con la toxicidad (la baja toxicidad del As elemental se atribuye a su virtual insolubilidad en agua y fluidos corporales, mientras que el As(+3) altamente tóxico, por ejemplo, es soluble en agua a 12 g/L a 0°C, 21 g/L a 25°C, y 56 g/L a 75°C; y (6) los mecanismos de toxicidad del As difieren considerablemente entre sus especies, aunque los signos de intoxicación parecen ser similares para todos los arsenicales.

La toxicidad primaria de As(+3) es a través de la reacción con los -SH de las proteínas y la posterior inhibición de la enzima, por ejemplo, la reducción de NAD (dinucleótido de nicotinamida y adenina) mediante la desactivación de enzimas críticas en el ciclo del ácido tricarbóxico (Figura 9) y en ocasiones provoca cambios morfológicos en las mitocondrias hepáticas (Belton *et al.*, 1985).

En cambio, el As(+5) inorgánico no reacciona tan fácilmente con los -SH, pero puede intervenir en la fosforilación oxidativa reemplazando al fosfato, por ejemplo, en los enlaces de alta energía del ATP (Adenosina trifosfato) (Howard *et al.*, 1984; USEPA, 1985; Gorby, 1988); además, el As(+5) se reduce a As(+3) en el riñón (Belton *et al.*, 1985) y así puede contribuir en el incremento de la forma As(+3). Por lo anterior, el As se distribuye en hígado, riñón, piel y escamas (debido al alto contenido de -SH de la queratina), branquias y músculo, donde el As inorgánico se biotransforma en As orgánico lipo e hidrosoluble (ATSDR, 2007).

La excreción es principalmente a través de la orina en forma metilada (Vahter, 1983); la metilación de los ácidos metilarsónico ( $(CH_3)_2AsO_3H_2$ ) y dimetilarsínico ( $(CH_3)_2AsO_2H$ ) suelen



ser el principal mecanismo de desintoxicación para As(+5) y As(+3) inorgánicos en mamíferos. La metilación del As (a diferencia de la metilación del Hg) reduce en gran medida la toxicidad (Woolson, 1975), este se produce mayormente en el hígado (Belton *et al.*, 1985).

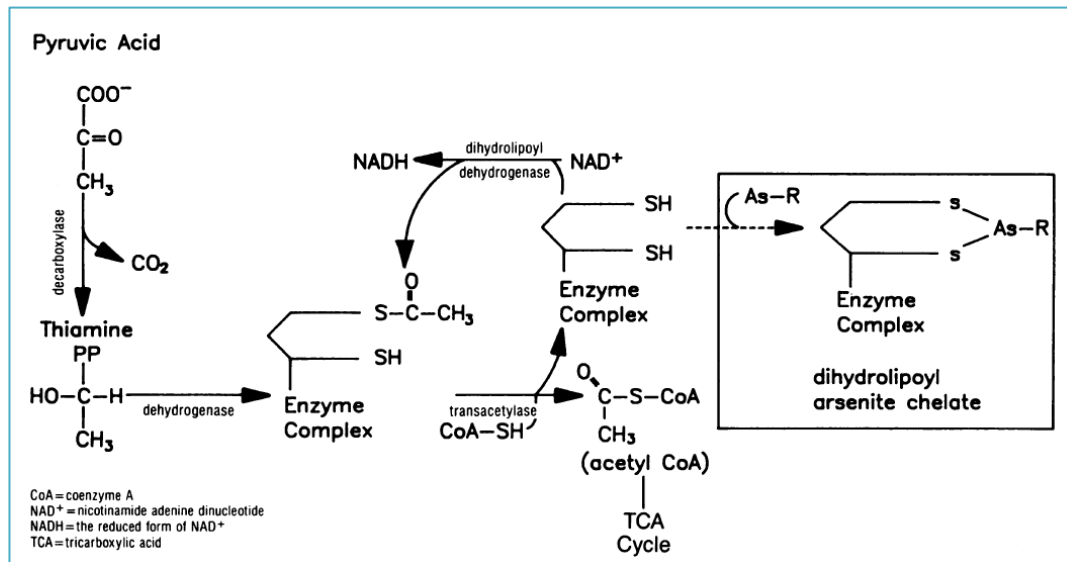


Figura 9. Efectos de As(+3) sobre el sistema de enzimas sulfhidrilo. Se muestra la inhibición de la piruvato oxidasa por la formación del arsenito quelado previniendo la reoxidación del grupo dihidrolipol necesario para continuar la actividad enzimática. La oxidación del succinato es interrumpida de manera idéntica como lo son muchas otras enzimas (Gorby, 1988).

#### 2.4.2.3. Efectos en la biota acuática

El arsenito de sodio se ha usado ampliamente como un herbicida para el control de la vegetación acuática en estanques de agua dulce y lagos; concentraciones de As(+3) de 1,5 a 3,8 mg/L han sido eficaces y se consideraban seguros para los peces (NAS, 1977a); sin embargo, también se indicó que puede ser perjudicial para teleósteos de agua dulce, incluyendo la trucha Arcoíris (NAS, 1977a; Johnson y Finley, 1980; USEPA, 1980a; USEPA, 1985).

Peces expuestos a 1-2 mg/L de As durante tres (3) días pueden mostrar señales como focos hemorrágicos en branquias, infiltración grasa en hígado y necrosis en corazón, hígado y tejido ovárico (NRCC, 1978). En otro estudio, Kotsanis e Iliopoulou (1999) inyectaron una solución con 21 ng de  $\text{AsCl}_3$  en el saco vitelino de truchas Arcoíris sanas y las mantuvieron 6 meses a 12-15°C, observándose una mortalidad de crías de 64,3% después de 28 días. A los 6 meses de la inyección los alevines sobrevivientes fueron sacrificados y se observaron lesiones

renales en 39,6% de individuos; estos daños eran grandes áreas de fibrosis. En hígado, se observaron lesiones proliferativas y no neoplásicas, también un gran desarrollo de hepatocitos y colangiocitos de manera desorganizada.

Eisler (1988) realizó una revisión de varios investigadores (NRCC, 1978; Pershagen y Vahter, 1979; USEPA, 1980a; Hood, 1985) y encontró que estaban de acuerdo en 10 puntos sobre la toxicidad del As: (1) arsenicales inorgánicos son más tóxicos que orgánicos, mientras que As(+3) son más tóxicos que los As(+5); (2) los episodios de envenenamiento por As son agudos o subagudos, casos crónicos rara vez se encuentran, salvo en los seres humanos; (3) las primeras etapas de desarrollo son las más sensibles al As; (4) el As inorgánico puede atravesar las barreras placentarias, por ejemplo, en hamster produjo muerte fetal y malformaciones con dosis baja de As(+5) a 1,7 mg/kg de peso corporal en las etapas críticas de embriogénesis; (5) la biometilación es el mecanismo preferido para la desintoxicación de arsenicales inorgánicos, (6) el As se bioconcentra por los organismos, pero no se biomagnifica en la cadena alimentaria; (7) los efectos adversos sobre la vegetación se registraron a concentraciones en aire mayores a 3, 9  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ; (8) algunas especies acuáticas fueron afectadas negativamente a concentraciones en agua de 19 a 48  $\mu\text{g}/\text{L}$ , o 120 mg/kg en la dieta, o residuo en tejido de 1,3 a 5 mg/kg de peso fresco; (9) especies de aves sensibles murieron luego de una dosis única oral de 17,4 a 47,6 mg/kg de peso vivo; y (10) los efectos adversos en mamíferos fueron notados en dosis única oral de 2,5 a 33 mg/kg de peso corporal, en dosis oral crónica de 1 a 10 mg/kg de peso vivo y en la alimentación con niveles de 50 mg y a veces sólo de 5 mg/kg.

La probabilidad de ocurrencia de efectos biológicos adversos en respuesta a una exposición a As en un lugar particular, depende de la sensibilidad de la especie y de criterios examinados, como de la variedad de factores físico-químicos (pH y potencial redox), geoquímicos (tamaño de partícula, concentración de fósforo y óxidos metálicos), y biológicos (tipo de alimentación y tasa de consumo) que afectan la biodisponibilidad de As (*Environment Canada*, 1998).

Las concentraciones de As en organismos vivos son generalmente menores a 1 mg/kg (peso fresco) en flora y fauna terrestres, aves y biota de agua dulce (NRCC, 1978); mientras los organismos marinos tienden a tener concentraciones más altas, comparadas con los de agua dulce (Maeda *et al.*, 1990; *Environment Canada*, 1998). Sin embargo, Francesconi y Edmonds (1993) observaron que los organismos marinos no representan un riesgo porque la bioacumulación del As para niveles tróficos superiores es de la forma de arsenobetaina, especie relativamente no tóxica. Además, no hay indicaciones que el As se biomagnifica en la cadena alimenticia dulce acuícola (NAS, 1977a; NRCC, 1978).

El As interacciona con otros metales, por ejemplo con el Se son antagonistas en varias especies animales; así, en ratas, perros, cerdos, ganado y aves de corral, el As protege contra la intoxicación por Se, si el As se administra en el agua de bebida y el Se a través de la dieta (NAS, 1977a; NRCC, 1978; Pershagen y Vahter, 1979). Los efectos tóxicos del As pueden ser contrarrestados con purgantes salinos, con demulcentes para proteger la mucosa gastrointestinal, por tiosulfato de sodio (NAS, 1977a), y por compuestos conteniendo mono-, ditiol-y 2,3-dimercaptopropanol. Por el contrario, los efectos tóxicos se potencian por exceso de ditioles, Cd y Pb en roedores (Pershagen y Vahter, 1979).

#### **2.4.2.4. Efectos en el hombre**

Estudios epidemiológicos muestran que el aumento de riesgo de cáncer de piel, pulmón, hígado y sistemas hematopoyéticos en seres humanos está asociado con la exposición a compuestos inorgánicos de As. Este aumento de riesgos de cáncer es especialmente frecuente entre los trabajadores de fundición y en los que se dedican a la producción y uso de pesticidas arsenicales que exceden los niveles atmosféricos de  $54,6 \mu\text{g}/\text{m}^3$  (NRCC, 1978; Belton *et al.*, 1985; Pershagen y Bjorklund, 1985).

Los síntomas de intoxicación aguda generalmente ocurren dentro de los 30 minutos de exposición. Inicialmente, un paciente puede tener un sabor metálico o notar un ligero olor a ajo en el aliento, asociado con boca seca y disfagia (Gorby, 1988; ATSDR, 2007).

Entre tanto, la intoxicación crónica es mucho más insidiosa en la naturaleza. Tumores de piel, principalmente de baja malignidad, se han reportado después del consumo de agua potable rica en As. Una dosis total de varios gramos, probablemente  $\text{As}(+3)$ , se requiere para desarrollar tumores de piel (Pershagen y Vahter, 1979), una alta incidencia de cáncer de piel e hiperpigmentación se observó en diversas poblaciones, sobre todo Taiwán y Chile, que consumían agua con más de  $0,6 \text{ mgAs}/\text{L}$ , en donde la frecuencia de cáncer fue mayor en personas mayores de 60 años, quienes manifestaron síntomas de intoxicación crónica por As (NRCC, 1978).

Varios compuestos inorgánicos de As son inductores débiles de aberraciones cromosómicas, intercambio de cromátidas hermanas y transforman células *in vitro* de mamíferos (Pershagen y Vahter, 1979; Belton *et al.*, 1985); además, estudios con bacterias sugirieron que  $\text{As}(+3)$  puede inhibir la reparación del ADN (ácido desoxirribonucleico) (Belton *et al.*, 1985; ATSDR, 2007).

### **2.4.3. Cadmio (Cd)**

#### **2.4.3.1. Fuentes y usos**

El Cd se encuentra naturalmente en compuestos comunes que incluyen el óxido, sulfuro y carbonatos de Zn, Pb y Cu, mientras que los complejos con cloruro y sulfato son menos comunes. Este metal es un contaminante neurotóxico persistente y fue uno de los metales más comúnmente usados en la industria agrícola de la década de los setentas (ATSDR, 1999; NTP, 2005).

Los mayores usos del Cd son la galvanoplastia, producción de pigmentos y manufactura de baterías y estabilizadores. Las fuentes antropogénicas incluyen productos de incineración de materiales con Cd, combustibles fósiles, fertilizantes, descargas de aguas residuales municipales, polvo atmosférico y humo de fundiciones, especialmente del Zn; sin embargo, la mayor fuente de exposición al Cd proviene de nuestra alimentación (Baird, 2001).

Los mariscos, vísceras como riñones, papas y granos de trigo y arroz contienen altos niveles de Cd, más de 100 mg/kg; por ejemplo, los problemas ambientales más graves que han involucrado el Cd ocurrieron en la región del Valle del río Jintsu, Japón, donde el arroz para el consumo local (2 mg/kg de Cd) crecía con irrigación de agua extraída de un río contaminado de forma crónica con Cd disueltos de la extracción y fundición de Zn, procedente de operaciones aguas arriba. Cientos de personas en esta área, en especial ancianos y mujeres multíparas, con dietas pobres, contrajeron una enfermedad degenerativa de los huesos, llamada *itai-itai* traducido como ay-ay, denominada así por los fuertes dolores articulares y musculares (Baird, 2001).

Este metal tóxico está clasificado dentro del grupo B1 de probables cancerígenos humanos (USEPA, 2006), y no se elimina de los ecosistemas acuáticos, sino que se acumula en los sedimentos (CCME, 1999b; Olsvik *et al.*, 2000).

#### **2.4.3.2. Propiedades químicas y bioquímicas**

El Cd se encuentra en el mismo subgrupo del Zn y Hg en la tabla periódica, pero es más similar al primero (Baird, 2001). Los dos estados de oxidación del Cd son el metálico ( $\text{Cd}^0$ ) y el divalente ( $\text{Cd}^{2+}$ ), que es su único ion. El  $\text{Cd}^0$  es insoluble en agua, mientras varias de sus sales ( $\text{CdCl}_2$  y  $\text{CdSO}_4$ ) son solubles; por otro lado, el  $\text{Cd}^{2+}$  predomina más en depósitos naturales (CCME, 1999b).

Los procesos de adsorción y desorción son probablemente los mayores factores en controlar la concentración de Cd en aguas naturales y tiende a contrarrestar cambios en la

concentración iónica de Cd en solución (CCME, 1999b). La mayor parte del Cd que ingresa a los cuerpos de agua, eventualmente se asocian en el fondo del sedimento con materia orgánica y óxidos de Mn y Fe, o precipitan con solución de carbonato o sulfuro (CCME, 1999a y 1999b).

El Cd así asociado con óxidos de Mn y Fe, puede convertirse en biodisponible como resultado de cambios en las condiciones ambientales las cuales afectan la distribución del Cd entre las fases disuelta y particulada (por ejemplo, alteración del sedimento con disminución del pH e incremento del potencial redox). En contraste, el Cd dentro del entramado cristalino de arcilla y algunos otros minerales los cuales están asociados con fracciones de ácido extraíble o sedimento residual es generalmente considerado menos biodisponible. Por tanto, los sedimentos, actúan como una importante ruta de exposición para los organismos acuáticos (CCME, 1999a).

La absorción de Cd en el cuerpo puede producirse mediante exposición oral o por inhalación. La inhalación, absorción y distribución dentro del cuerpo parecen estar afectadas por la forma química, el tamaño de partículas inhaladas y la solubilidad en fluidos biológicos (ATSDR, 1999).

Una vez el Cd es ingerido, su biodisponibilidad depende de varios factores, incluyendo la actividad enzimática y el pH intestinal (*Environment Canada*, 1997). El  $\text{Cd}^{2+}$  puede ser permeable a las barreras pulmonar e intestinal con ayuda de transportadores; pero, las formas complejas encontrados en cultivos de arroz, por ejemplo fitoquelatinas unidas a Cd, también pueden ser absorbidas (Maret y Moulis, 2012).

El Cd no es conocido por experimentar alguna conversión metabólica como oxidación, reducción o alquilación. El  $\text{Cd}^{2+}$  se une a grupos aniónicos, especialmente los  $-\text{SH}$  en proteínas como albúmina, MT y otras moléculas (Nordberg *et al.*, 1985), con las cuales circula en plasma (Foulkes y Blanck, 1990) (Figura 10).

Asimismo, como catión el  $\text{Cd}^{2+}$  secuestra sistemas moleculares involucrados en el manejo de otros cationes metálicos esenciales. Si bien las propiedades químicas del calcio divalente ( $\text{Ca}^{2+}$ ) difieren del  $\text{Cd}^{2+}$ , ambos cationes tienen la misma carga neta y radios iónicos muy próximos. Consecuentemente, el  $\text{Cd}^{2+}$  es una especie mimética del  $\text{Ca}^{2+}$ ; por ejemplo, el  $\text{Cd}^{2+}$  reemplaza fácilmente al  $\text{Ca}^{2+}$  en la hidroxiapatita, un mineral ampliamente utilizado como fertilizante. De manera similar, el hueso contiene microcristales de hidroxiapatita: los osteoblastos pueden por lo tanto incorporar Cd iónico y cambiar las propiedades mecánicas del esqueleto. El Cd es a menudo transportado mediante transportadores de Zn, aunque estos transportadores permiten al Cd alcanzar el citoplasma celular, no está establecido que el

transporte de Cd interfiera con el Zn. Sin embargo, una vez dentro de la célula el Cd interactúa e induce MT; el complejo Cd-MT distribuye el Cd, pero su formación puede impactar la homeostasis del Zn dado que la MT es la principal molécula buffer identificada del Zn (Maret y Moulis, 2012).

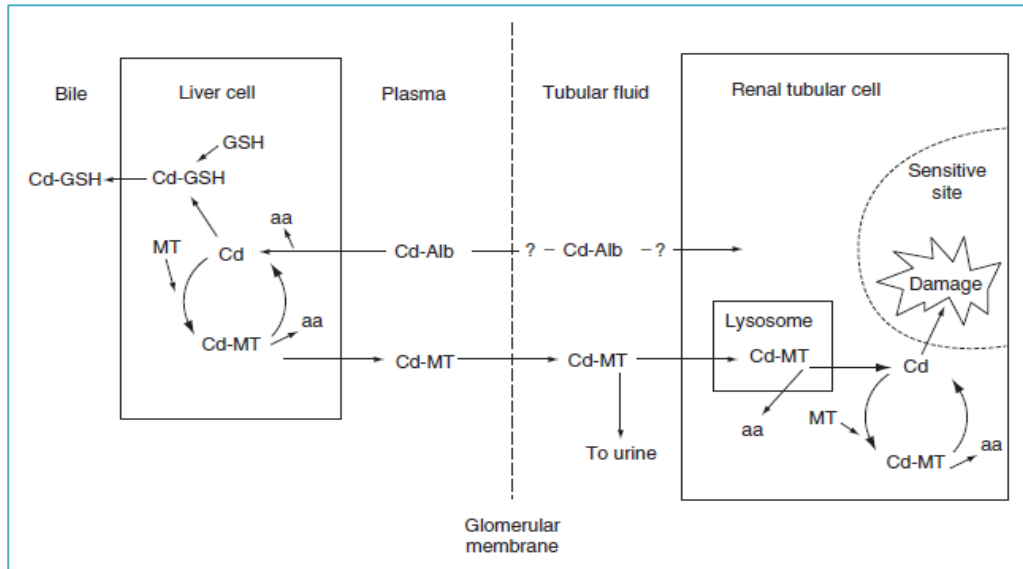


Figura 10. Esquema básico de flujo de Cd en el cuerpo. Se demuestra el rol de las formas ligadas en sangre y la síntesis y degradación de la metalotioneína. GSH: glutatión, MT: metalotioneína; aa: aminoácidos; Alb: albúmina. (Cornelis y Nordberg, 2007).

Muchas moléculas involucradas en mecanismos de defensa antioxidantes son candidatas para unirse al Cd debido a que estas tienen grupos reactivos donantes de electrones como tiolatos para su función; además, proteínas como las tioredoxinas y peroxiredoxinas, que regulan los mecanismos celulares redox dependientes, tienen potencial para ligarse al Cd con sus cisteínas reactivas. Estos ejemplos, indican que el Cd puede secuestrar y mermar las principales células de defensa a daños oxidativos. Adicionalmente, el Cd parece interferir con la cadena respiratoria mitocondrial, que es uno de los mayores productores de especies parciales de oxígeno reducido, que aumenta esta producción y contribuye al desbalance redox. Las mitocondrias defectuosas son también involucradas en la inducción de muerte celular como resultado de la exposición a Cd. Por otro lado, es muy probable que la interferencia en la homeostasis redox sea parte de diferentes pasos de carcinogénesis inducida por Cd; por ejemplo, la reparación del ADN se realiza usando endonucleasas, que son activadas por mecanismos redox e inhibidas por Cd (Maret y Moulis, 2012).

#### **2.4.3.3. Efectos en la biota acuática**

Al igual que en otros metales pesados, el Cd puede entrar en la cadena alimentaria y concentrarse en los organismos; pero, en peces también puede penetrar a través de las branquias como se evidencia por su rápida acumulación durante la exposición en agua (McDonald y Wood, 1993). En períodos cortos, es decir, horas o días, las concentraciones metálicas alcanzan niveles que pueden causar estrés fisiológico e incluso matar a los organismos (Spry y Wiener, 1991).

El Cd también se acumula en otros tejidos, tales como hígado y riñón (McGeer *et al.*, 2000). La toxicidad del Cd en peces de agua dulce ha sido ampliamente estudiado (Spry y Wiener, 1991) y los salmónidos parecen estar entre las especies más sensibles para este metal (Buhl y Hamilton, 1991; Sanchez-Galan *et al.*, 1999).

El principal trastorno fisiológico relacionado con la toxicidad de Cd son las modificaciones de las actividades enzimáticas en órganos como en hígado, branquias, riñones e intestino (Gill *et al.*, 1991). El complejo Cd-MT en varios tejidos (Hogstrand y Haux, 1990; Olsvik *et al.*, 2000) junto a otros complejos Cd-proteína, pueden participar en la desintoxicación por secuestro del metal (Kay *et al.*, 1986; Maret y Moulis, 2012). Sin embargo, se puede generar una saturación de MT unido a la incapacidad del Cd para desplazar al Zn y Cu de la MT endógena, excepto cuando son introducidas (*in vivo* o *in vitro*) concentraciones muy altas de Cd (Kay *et al.*, 1986). Otras lesiones del Cd incluyen la genotoxicidad (Sanchez-Galan *et al.*, 1999; Risso de Faverney *et al.*, 2001) y trastornos reproductivos (Singhal *et al.*, 1985).

Los organismos bentónicos están expuestos a Cd particulado y disuelto, a Cd unido al sedimento y por la ingestión de sedimento. Sin embargo, se cree que las formas disueltas de Cd son más fácilmente biodisponibles (CCME, 1999a y 1999b). El Cd asociado con fracciones de sedimento que muestra capacidad de intercambio catiónico o que es fácilmente reducido es generalmente más biodisponible que los asociados con otras fracciones (*Environment Canada*, 1997).

#### **2.4.3.4. Efectos en el hombre**

El Cd es tóxico para una amplia gama de órganos y tejidos; sin embargo, los órganos diana primarios son los riñones, huesos y pulmones (exposición por inhalación). La exposición crónica por vía oral ha producido daño celular del túbulo proximal, proteinuria (principalmente proteínas de bajo peso molecular, como  $\beta$ 2-microglobulina), glucosuria, aminoaciduria, poliuria, disminución de la absorción de fosfato, y enzimuria en los seres humanos y en

animales de laboratorio. El resultado clínico de los síntomas son la degeneración y atrofia de túbulos proximales, o (en el peor de los casos) la fibrosis intersticial del riñón (ATSDR, 1999).

Se piensa que cuando se supera la capacidad de producción de MT de las células de los túbulos, se produce la insuficiencia renal. Se ha demostrado que el Cd perturba la composición de lípidos y aumenta la peroxidación lipídica (Gill *et al.*, 1991). El agotamiento de las enzimas antioxidantes, específicamente glutatión peroxidasa y superóxido dismutasa, se ha propuesto como el mecanismo de efectos cardiotoxicos del Cd (Jamall y Smith, 1985a), pero estudios posteriores mostraron que mecanismos cardiotoxicos distintos de la peroxidación también están presentes (Jamall *et al.*, 1989).

El Cd altera el metabolismo del Zn, Fe y Cu así como del Se (Jamall y Smith, 1985b). Xu *et al.* (1995) propuso como paso inicial en la toxicidad inducida por Cd en testículos, que interfiere con los complejos Zn-proteína los cuales controlan la transcripción del ADN y posteriormente conduce a la apoptosis. El Cd por el secuestro de MT o un agente quelante impide la alteración de controles transcripcionales dependientes de Zn (Xu *et al.*, 1995).

#### **2.4.4. Cobre (Cu)**

##### **2.4.4.1. Fuentes y usos**

El Cu se encuentra naturalmente no combinado y combinado con muchos minerales. Las tres fuentes minerales más importantes son: calcocita ( $\text{Cu}_2\text{S}$ ), calcopirita ( $\text{CuFeS}_2$ ) y malaquita ( $\text{CuCO}_3 \cdot \text{Cu}(\text{OH})_2$ ) (ATSDR, 1990).

La mayor parte del Cu producido se utiliza para la fabricación de equipos eléctricos, tuberías y maquinaria. La liberación de Cu a la biosfera a nivel mundial, puede acercarse a 1,8 millones de toneladas métricas por año, que provienen principalmente de actividades humanas como las emisiones industriales y efluentes, residuos urbanos y lodos depurados (NAS, 1977b; Eisler, 1998).

En las zonas mineras e industriales, la precipitación atmosférica es una importante fuente de Cu para el medio ambiente acuático (USEPA, 1980b; Buhl y Hamilton, 1990) y tiende acumularse en el sedimento por su afinidad a la materia particulada (Campbell y Tessier, 1996).

##### **2.4.4.2. Propiedades químicas y bioquímicas**

El Cu es un metal que se presenta en cuatro estados de oxidación ( $\text{Cu}^0$ ,  $\text{Cu}^{1+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{3+}$ ) siendo el ion cúprico ( $\text{Cu}^{2+}$ ) el más común (CCME, 1997). El ion cuproso ( $\text{Cu}^{1+}$ ) sólo existe en



solución acuosa cuando forma complejos, usualmente en forma tetraédrica, con afinidad por ligandos de S y N (Schroeder *et al.*, 1966). El  $\text{Cu}^{1+}$  es inestable en solución acuosa aireada a pH de 6 a 8, y se someterá a autooxidación-reducción en  $\text{Cu}^0$  y  $\text{Cu}^{2+}$  (USEPA, 1980b; Aaseth y Norseth, 1986). El único compuesto de  $\text{Cu}^{1+}$  que es estable en agua son los extremadamente insolubles, como el cloruro cuproso ( $\text{CuCl}$ ) (ATSDR, 1990).

El  $\text{Cu}^{2+}$  es el estado de oxidación más importante de Cu y es el que más se encuentra en el agua coordinado con seis moléculas de agua en solución. Cuando el  $\text{Cu}^{2+}$  ingresa en el medio ambiente, típicamente se une a materia orgánica e inorgánica contenidos en el agua, suelo y sedimentos. En agua, se une a materia orgánica disuelta como ácidos húmicos o fúlvicos, formando complejos estables con grupos  $-\text{NH}_2$  (amino),  $-\text{SH}$  y, en menor medida, con  $-\text{OH}$  (hidroxilo) de estos ácidos (Eisler, 1998).

En sedimentos y suelos, se unirá a los componentes inorgánicos y orgánicos con diferentes afinidades; por ejemplo, el  $\text{Cu}^{2+}$  se une fuertemente al hidróxido de Mn y óxidos de Fe en arcilla y a ácidos húmicos en materia orgánica, pero mucho menos fuertemente a aluminosilicatos en arena. Al igual que en agua, la unión de  $\text{Cu}^{2+}$  con la materia inorgánica y orgánica en sedimentos y suelo depende de cambios en las condiciones ambientales (por ejemplo, alteración del sedimento, disminución del pH e incremento del potencial redox) pueden incrementar la biodisponibilidad del Cu asociado con la fase sólida inorgánica, materia orgánica y óxidos de Mn y Fe. En contraste, el Cu dentro del entramado cristalino de arcilla y algunos otros minerales que están asociados con fracciones de ácido extraíble o sedimento residual es generalmente menos biodisponible (ATSDR, 1990; *Environment Canada*, 1998; Eisler, 1998).

El  $\text{Cu}^{2+}$  y algunas especies de Cu hidroxilado se correlacionan con alta toxicidad para la vida acuática; sin embargo, especies de carbonato ( $\text{CuHCO}_3^+$ ,  $\text{CuCO}_3$ ,  $\text{Cu}(\text{CO}_3)_2^{-2}$ ) son mucho menos tóxicos que otros complejos de Cu (Meador, 1991). El  $\text{Cu}^{2+}$  es la especie tóxica dominante a pH menor a 6; el complejo de carbonato de Cu acuoso es dominante a pH 6-9,3 (USEPA, 1980b). Este equilibrio se altera en presencia de ácidos húmicos y fúlvicos, aminoácidos, cianuro, ciertos polipéptidos y detergentes (USEPA, 1980b). La mayoría de las sales cúpricas se disuelven fácilmente en agua dulce para producir el ion  $\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6^{+2}$  (Leckie y Davis, 1979).

El Cu es parte de varias enzimas esenciales, incluyendo la tirosinasa (producción de melanina), la dopamina beta-hidroxilasa (producción de catecolaminas), superóxido dismutasa Cu-Zn (detoxificación de radicales libres) y citocromo oxidasa y ceruloplasmina (conversión de Fe) (Aaseth y Norseth, 1986; ATSDR, 1990; Eisler, 1998).

Todos los animales terrestres contienen Cu como un constituyente del citocromo c oxidasa, monofenol oxidasa, el plasma de la monoamino oxidasa, y complejos proteicos de Cu (Schroeder *et al.*, 1966). Sin embargo, el Cu puede ser tóxico a elevadas concentraciones (CCME, 1999; ATSDR, 1990; Tailor *et al.*, 1996). Por consiguiente, los niveles de Cu en el cuerpo deben ser objeto de estrecho control homeostático con el fin de evitar la deficiencia y la toxicidad. El mantenimiento del equilibrio del Cu implica la estricta regulación de la absorción, distribución, desintoxicación y excreción; pero, por otro lado el metabolismo y regulación del Cu en el pez es muy poco conocido (Kamunde *et al.*, 2002).

La diana de los iones Cu libres en las membranas celulares son los grupos tiol o -SH, los cuales reducen el  $\text{Cu}^{2+}$  a  $\text{Cu}^{1+}$  tras la oxidación simultánea de disulfuros en la membrana. El  $\text{Cu}^{1+}$  es reoxidado a  $\text{Cu}^{2+}$  en presencia de oxígeno molecular, este último se convierte así en el radical superóxido ( $\text{O}^{2-}$ ), que induce la lipoperoxidación (Aaseth y Norseth, 1986; ATSDR, 1990).

En invertebrados acuáticos, causa daño branquial a altas concentraciones, y en peces interfiere con la osmorregulación, transporte de oxígeno y metabolismo energético; la hipoxia tisular es la causa de muerte y se asocia con la reducción de actividades de las enzimas reguladoras de síntesis del ATP (Eisler, 1998).

En humanos, luego de ingerido el Cu se eleva rápidamente su nivel en sangre. Hay algunas pruebas de que la albúmina juega un papel pasivo en el transporte de Cu, llevando gran parte de este metal en circulación y liberándolo a otros portadores para su captación específica celular. Por lo tanto, el Cu en la dieta es transportado hacia hígado y riñón; a continuación, reaparece en plasma unido a la ceruloplasmina, la cual puede llevar fuertemente seis o siete átomos de Cu y es la proteína que lleva el 60-95% del Cu plasmático (Aaseth y Norseth, 1986; ATSDR, 1990).

La ceruloplasmina transporta el Cu desde el hígado hacia otros tejidos, pero no ingresa a la célula. Probablemente el  $\text{Cu}^{1+}$  en lugar de  $\text{Cu}^{2+}$ , entra a la célula a través de un proceso mediado por una ATPasa al que se une (Cu-ATPasa) selectivamente, así transporta los iones hacia dentro y fuera de la célula (Harris *et al.*, 1998).

En hígado y otros tejidos, el Cu se almacena unido a MT, aminoácidos y enzimas dependientes de Cu, por ello la exposición a Cu induce síntesis de MT (ATSDR, 1990; Eisler, 1998). Los mecanismos moleculares que determinan la excreción biliar de Cu son cada vez más claros debido a la mejor comprensión de los defectos genéticos, como la enfermedad de Wilson. En concreto, la proteína Wilson localizada en la red trans-Golgi de los hepatocitos no sólo entrega el Cu a la ceruloplasmina, si no también es esencial para la excreción biliar del Cu.

Recientemente, otras proteínas también han sido identificadas que interaccionan con la proteína Wilson y parecen ser igualmente importantes en el proceso de la excreción biliar (Tao *et al.*, 2003).

Los niveles de Cu en el cuerpo de los mamíferos se mantienen constantes por alteraciones en la velocidad y cantidad que se absorbe, distribución, frecuencia y vía de excreción (ATSDR, 1990). Hay muchos factores que interfieren con su absorción, incluyendo la competencia por los sitios de unión, como Zn; quelación, como los fitatos; y la interacción con el ácido ascórbico, que agrava la deficiencia de Cu por la disminución de la absorción y reduce los efectos tóxicos en un exceso del metal (USEPA, 1980b; ATSDR, 1990).

#### **2.4.4.3. Efectos en la biota acuática**

Hay evidencia experimental de un considerable número de especies sensibles a concentraciones disueltas tan bajas como 1-10 µg/L (Bryan y Langston, 1992). Estudios con radiocobre 64 en trucha Arcoíris, demostraron que la superficie externa del epitelio branquial tiene una afinidad relativamente baja por el Cu, permitiéndole penetrar en compartimentos intracelulares. Una vez ahí, la unión a ligandos más complejos causa uno o más de los siguientes mecanismos tóxicos: (1) bloqueo de grupos funcionales esenciales de biomoléculas; (2) desplazamiento del ión metálico esencial en moléculas, o (3) modificación en la conformación activa de biomoléculas. El Cu interrumpe la función branquial de la trucha Arcoíris por deterioro del intercambio iónico transepitelial, por ejemplo, obstaculiza o perturba el equilibrio de electrolitos mediante la inhibición de la absorción activa o estimulación de la pérdida pasiva (Reid y McDonald, 1991).

Se ha establecido que el Cu se acumula en el hígado, riñón, sangre, branquias y piel de peces y es probablemente excretado mayormente en la bilis vía metabolismo hepático (Kamunde *et al.*, 2002). Los mecanismos de detoxificación de Cu en peces, incluyen la inducción de MT que permiten la retención de Cu durante semanas o meses (Marr *et al.*, 1995).

El exceso de Cu es secuestrado dentro de los lisosomas hepáticos en el que forma un complejo con MT; sin embargo, este mecanismo de protección es saturable y las lesiones hepáticas pueden desarrollarse una vez saturado. Se especula que esta saturación de los lisosomas resulta en una acumulación de Cu en núcleo con daños posteriores (Fuentealba *et al.*, 1989). El mecanismo por el cual el Cu se acumula en el núcleo y los mecanismos por los que provoca lesiones no están claros.

El Cu tiene una correlación positiva con el Zn en branquias de dos especies de peces del Mar Mediterráneo (Romeo *et al.*, 1994). Las mezclas de sales de Cu y Zn en peces marinos o

de agua dulce son aditivas y más tóxicas, y produjeron más muertes de lo esperado en 96 horas sobre la base de los componentes individuales (Eisler, 1993). Sin embargo, mezclas de Cu (0 a 90 µg/L) y Zn (0 a 1200 µg/L) son sólo aditivos en acción por una bacteria marina (*Photobacterium phosphoreum*), disminuyendo su luminiscencia después de la exposición por 30 minutos (Parrott y Sprague, 1993).

La toxicidad del Cu en forma de complejos, precipitado, o adsorbido es menor que la forma de ion libre (Eisler, 1998). Las formas disueltas de Cu son consideradas las más fácilmente biodisponibles (Campbell y Tessier, 1996); así mismo, el Cu asociado con fracciones de sedimento que muestra capacidad de intercambio catiónico o que es fácilmente reducido es generalmente más biodisponible que los asociados con otras fracciones (*Environment Canada*, 1998). Debido a que una variedad de organismos viven o están en contacto con el sedimento, este actúa como una ruta importante de exposición para los organismos acuáticos (CCME, 1999).

#### **2.4.4.4.Efectos en el hombre**

Dos enfermedades humanas hereditarias que representan metabolismo anormal del Cu son el síndrome de Menkes y la enfermedad de Wilson. El síndrome de Menkes, con síntomas similares a la deficiencia de Cu, se caracteriza por ser una enfermedad cerebral progresiva con concentraciones anormalmente bajas de Cu en hígado y otros tejidos, y disminución de la capacidad para transferir el Cu a través de la absorción en la mucosa intestinal (USEPA, 1980b; Aaseth y Norseth, 1986).

La enfermedad de Wilson (degeneración hepatolenticular) es el único ejemplo de toxicidad de Cu en humanos, la cual es un trastorno autosómico recesivo que afecta a la homeostasis normal de Cu y se caracteriza por la retención excesiva en hígado, disminución de la concentración en suero de ceruloplasmina, alteración de la excreción biliar e hipercupremia. Las manifestaciones sistémicas son lesiones hepáticas y renales, y anemia hemolítica (Schroeder *et al.*, 1966; USEPA, 1980b; Aaseth y Norseth, 1986; ATSDR, 1990).

A nivel celular, la toxicidad del Cu altera la configuración proteica y la actividad biológica como la catálisis de reacciones de peroxidación y la posterior generación de radicales libres que dañan lípidos y proteínas, las interacciones con los grupos -R de proteínas, en particular los grupos -SH, y actúan como sustituto para otros metales en metaloproteínas (ATSDR, 1990; Eisler, 1998).

## 2.4.5. Cromo (Cr)

### 2.4.5.1. Fuentes y usos

El Cr es un elemento traza esencial que puede ser tóxico a elevadas concentraciones para la biota acuática. El Cr ingresa al sistema acuático a través de escorrentía superficial y emisiones atmosféricas de industrias productoras de metales y aleación de Cr; cantidades menores provienen de la combustión de carbón, incineradores, producción de cemento, y torres de refrigeración (Eisler, 1986; CCME, 1999).

Las emisiones atmosféricas de Cr contribuyen con cuatro a seis veces más que los desechos líquidos en ecosistemas acuáticos. La principal fuente de Cr en el ambiente acuático, es la galvanoplastia e industria de acabado metálico y plantas de tratamiento público; mientras las fuentes menores son las fundiciones de hierro y acero, fábricas de productos químicos inorgánicos, curtiembres, industria textil, y escorrentía de áreas urbanas y residenciales (*Ecological Analysts*, 1981).

El Cr se asocia con la materia particulada resultando en su deposición en sedimento, con el que una variedad de organismos viven en contacto (CCME, 1999). A su vez, el Cr utilizado en fosfatos como fertilizante, también puede ser una fuente importante de Cr en suelo, agua y algunos alimentos (Langard y Norseth, 1979).

### 2.4.5.2. Propiedades químicas y bioquímicas

El Cr existe en estados de oxidación de -2 a +6, pero es más frecuente encontrarlo en los estados trivalente ( $\text{Cr}^{3+}$ ), reduciendo levemente en sedimentos y zonas húmedas, y hexavalente ( $\text{Cr}^{6+}$ ), en superficies del agua y suelos aeróbicos (Bailar *et al.*, 1973). Estas dos formas son las más importantes debido a que las otras son inestables y son fácilmente convertidas a  $\text{Cr}^{3+}$ , que a su vez es oxidado a  $\text{Cr}^{6+}$  (Langard y Norseth, 1979; *Ecological Analysts*, 1981).

El  $\text{Cr}^{6+}$ , bajo condiciones oxigenadas, forma un número de oxiácidos y aniones complejos incluyendo  $\text{HCrO}_4^-$  (hidrocromato),  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  (dicromato) y  $\text{CrO}_4^{2-}$  (cromato). Estas formas iónicas de  $\text{Cr}^{6+}$  son altamente solubles y muy móviles, con una larga permanencia en superficie y aguas subterráneas. Todos los compuestos  $\text{Cr}^{6+}$  aniónicos estables oxidan fuertemente la materia orgánica en contacto y produce  $\text{Cr}^{3+}$  (*Ecological Analysts*, 1981).

El  $\text{Cr}^{3+}$  es un ácido que tiende a formar complejos estables con los compuestos inorgánicos u orgánicos cargados negativamente ( $-\text{O}$ ,  $-\text{N}$  y  $-\text{S}$ ), haciendo que su solubilidad sea limitada por la formación de óxidos, hidróxidos y fosfatos altamente insolubles, y su fuerte tendencia de adsorción a superficies (Pawlisz *et al.*, 1997); por lo tanto, es improbable que se

encuentren sin complejar en solución acuosa si los compuestos aniónicos o partículas (como vegetal o tejido animal en descomposición, o partículas de arcilla o limo) están presentes. Las especies principales de  $\text{Cr}^{3+}$  son  $\text{Cr}(\text{OH})^{2+}$ ,  $\text{Cr}(\text{OH})_3$  y  $\text{Cr}(\text{OH})_4$ ; los hidróxidos precipitados de  $\text{Cr}^{3+}$  permanecen en los sedimentos bajo condiciones aeróbicas; en condiciones anóxicas y de bajo pH, sin embargo, los hidróxidos de  $\text{Cr}^{3+}$  se pueden solubilizar y permanecer como iones  $\text{Cr}^{3+}$  a menos que sea oxidado a  $\text{Cr}^{6+}$  a través de mezcla y aireación (*Ecological Analysts*, 1981).

La adsorción de Cr por sedimentos es dependiente de la salinidad, siendo mayor a salinidades de 0,1 a 1% (Mayer y Schick, 1981). El destino del Cr en el ambiente acuático variará dependiendo de su forma química, con  $\text{Cr}^{6+}$  será la forma dominante en aguas oxigenadas, y con  $\text{Cr}^{3+}$  será la forma dominante en sedimento, aguas anóxicas y aguas de bajo pH (*Environment Canada*, 1998).

El Cr en materiales biológicos está usualmente en el estado +3 (Langard y Norseth, 1979), y es la forma en que funciona como un elemento esencial en mamíferos para el mantenimiento eficiente de lípidos y proteínas (Steven *et al.*, 1976), y glucosa al servir como un cofactor para la acción de la insulina (Goyer, 1991; Vincent *et al.*, 1995). Mientras el alto potencial oxidante, alta solubilidad y permeabilidad de membrana hacen al  $\text{Cr}^{6+}$  generalmente más tóxico que el  $\text{Cr}^{3+}$ . El  $\text{Cr}^{6+}$  puede ser reducido al estado  $\text{Cr}^{3+}$  por  $\text{S}^{2+}$ ,  $\text{Fe}(+2)$ , ácido fúlvico, compuestos orgánicos de bajo peso molecular y proteínas dentro de las células (*Environment Canada*, 1997; Pawlisz *et al.*, 1997) (Figura 11).

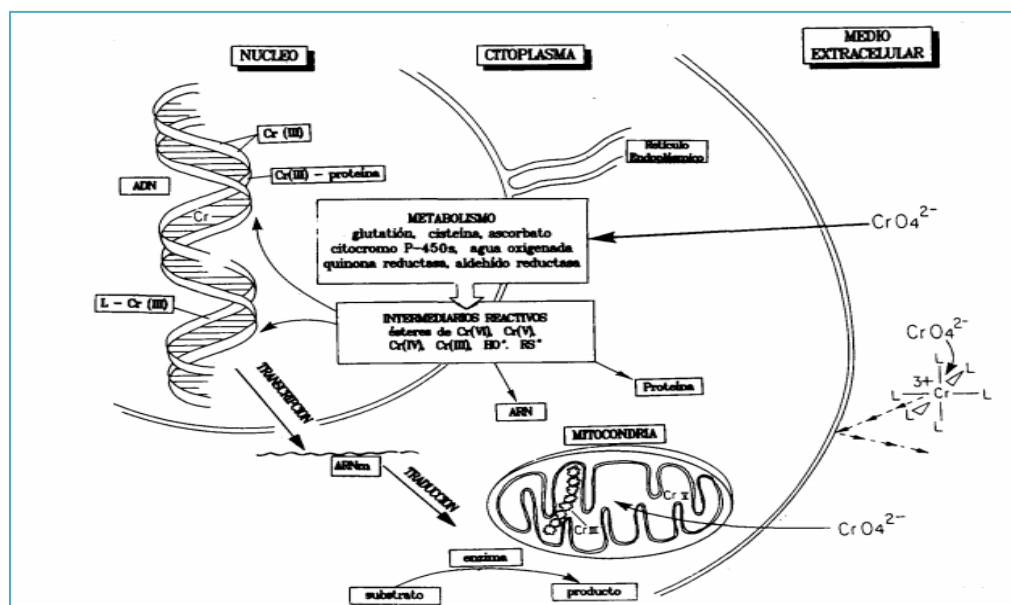


Figura 11. Toxicidad del Cr (VI): captación, reducción y daño al ADN. Esquema tomado de Sala *et al.* (1995).

Las concentraciones relativamente más altas de Cr son medidas en los sedimentos y, por lo tanto, representan una fuente potencial de exposición para algunos organismos acuáticos. La biodisponibilidad de Cr dependerá de su división entre las fases disueltas y particulada. Se cree que los metales asociados a las fracciones de sedimento que muestran la capacidad de intercambio catiónico o que son fácilmente reducidos, son más biodisponibles que los asociados con otras fracciones (*Environment Canada*, 1998); sin embargo, para el Cr, muchos estudios mostraron que la biodisponibilidad es independiente de la fracción fácilmente reducible en el sedimento (Bryan y Langston, 1992).

Cambios en las condiciones, por ejemplo alteración del sedimento, disminución del pH e incremento del potencial redox, pueden incrementar la biodisponibilidad de Cr asociado con fracciones de sedimento, como la fase sólida inorgánica, materia orgánica y óxidos de Mn y Fe. En contraste, el Cr que se une al entramado cristalino de arcilla y algunos otros minerales los cuales están asociados con fracciones de ácido extraíble o fracciones de sedimento residual es generalmente considerado menos biodisponible (*Environment Canada*, 1998).

#### **2.4.5.3. Efectos en la biota acuática**

Los peligros para la salud asociados con la exposición a Cr dependen de su estado de oxidación, que van desde la baja toxicidad de  $\text{Cr}^{3+}$  a la alta toxicidad de  $\text{Cr}^{6+}$ . En general, la toxicidad del  $\text{Cr}^{3+}$  para los mamíferos es baja debido a su pobre permeabilidad de membrana y porque no es corrosiva; además, hay poca tendencia que  $\text{Cr}^{3+}$  se biomagnifique en la cadena alimentaria en la forma inorgánica (Steven *et al.*, 1976).

El  $\text{Cr}^{6+}$  es más tóxico que  $\text{Cr}^{3+}$  debido a su alto potencial de oxidación y a la facilidad de penetrar las membranas biológicas (Steven *et al.*, 1976; Langard y Norseth, 1979; Ecological Analysts, 1981) por la fuerte acción oxidante de los cromatos, estas interacciones biológicas parecen resultar en la reducción a  $\text{Cr}^{3+}$  con posterior unión a moléculas orgánicas (Langard y Norseth, 1979).

Estudios diseñados para probar la sensibilidad de cinco peces, entre ellos trucha Arcoíris, perca y carpa; revelaron que la primera es 1,16 a 2,52 veces más sensible que las otras especies a exposición aguda a  $\text{Cr}^{6+}$  (Svecevicius, 2006). A altas concentraciones ambientales de  $\text{Cr}^{6+}$  (es decir, 2 mg/L en agua) y a pH alcalino, las concentraciones en tejidos de trucha Arcoíris fueron mayores en branquias, hígado, riñón, y tracto digestivo; después de colocar a los peces en medios libres de Cr, los residuos permanecieron mayormente en riñón e hígado; por otro lado, la concentración en branquias fue mayor a pH 7,8 que a 6,5 (Van der Putte *et al.*, 1981a).

Los estudios de perfusión en branquias mostraron que la transferencia de Cr se realiza directamente con la transferencia de oxígeno desde la solución externa hacia el medio de perfusión interna, y que esta transferencia fue significativamente más rápida a pH 6,5 que a pH alcalino (Van der Putte y Part, 1982). La tasa de absorción de  $\text{Cr}^{6+}$  fue rápida, el equilibrio se alcanzó en general en 2 a 4 días de exposición para los diversos tejidos, a excepción de las branquias, que continuó acumulando Cr con el aumento de la exposición a pH ácido (Eisler, 1986).

En la trucha Arcoíris, la intoxicación aguda por Cr provocó cambios morfológicos en branquias, riñón y estómago a un pH de 7,8; pero, sólo en branquias a pH 6,5 (Van der Putte *et al.*, 1981b). La absorción de Cr en la trucha aumentó cuando 10 mg/kg de Cd iónico estuvieron presentes en la solución (Calamari *et al.*, 1982).

En cuanto a las lesiones, Khangarot *et al.* (1990) observaron marcadas alteraciones ultraestructurales en las microcrestas e inflamación de epitelio primario y secundario en branquias, edema y fusión de lamelas secundarias, y degeneración de células epiteliales en bagre expuesto a Cr. Los efectos citotóxicos y genotóxicos se demostraron para el cromato de sodio, una forma soluble de  $\text{Cr}^{6+}$  en una línea celular de medaka (*Oryzias latipes*) (Goodale *et al.*, 2008).

Tan *et al.*, (2008) evaluaron la sensibilidad a metales pesados (Cd, Cr, Zn y Cu) en seis líneas celulares de peces. Las líneas celulares GCF (grass carp fins), CIK (Ctenopharyngodonidellus kidney), EPC (epitelioma papulosum cyprini), CCO (channel catfish ovary), BB (brown bullhead caudal trunk), y FHM (fathead minnow muscle) se compararon por su sensibilidad citotóxica a los cuatro metales. Los resultados indicaron que las seis líneas celulares fueron sensibles a todos los metales y que las células EPC demostraron una mayor sensibilidad a Cr y Zn.

#### **2.4.5.4. Efectos en el hombre**

La deficiencia de Cr se ha descrito en ratas, cobayos y monos ardilla; los signos incluyen reducción del crecimiento, colesterol sérico elevado, aumento de la formación de placas en la aorta y signos parecidos a los de la diabetes mellitus. Someter a los animales con deficiencia de Cr al estrés puede agravar los signos (Preston *et al.*, 1976).

En condiciones adecuadas, el Cr está asociado con mutaciones y tumores malignos (Norseth, 1981) en humanos y animales; sus efectos biológicos dependen de la forma química, solubilidad y valencia. Los compuestos de  $\text{Cr}^{6+}$  pueden causar ulceración de la piel, dermatitis irritativa, úlceras en las membranas mucosas, y las perforaciones del tabique nasal. La



inhalación de compuestos de  $\text{Cr}^{6+}$  puede causar carcinomas bronquiales en seres humanos (Langard y Norseth, 1979). La deficiencia en humanos se ha sugerido como un posible factor en la incidencia de diabetes y aterosclerosis. Un rasgo característico de los niveles de Cr en los tejidos humanos es la disminución con la edad (Onkelinx, 1977).

El Cr absorbido se distribuye a casi todos los tejidos, con las concentraciones más altas en riñones e hígado. La masa ósea es también un depósito importante y puede contribuir a la cinética de retención a largo plazo. El  $\text{Cr}^{6+}$  es inestable en el cuerpo y se reduce al estado +5, luego al +4, y por último a  $\text{Cr}^{3+}$  por muchas sustancias, incluyendo el ascorbato y glutatión. La reducción de  $\text{Cr}^{6+}$  a  $\text{Cr}^{3+}$  puede dar lugar a productos intermedios reactivos, adición de Cr con proteínas y ADN, y radicales libres secundarios. El  $\text{Cr}^{6+}$  en sangre es llevado dentro de los eritrocitos, donde se somete a reducción y forma complejos con la hemoglobina y otras proteínas intracelulares, las cuales son estables para retener una fracción sustancial de Cr para la vida útil de los eritrocitos. Este metal se excreta predominantemente en la orina (Wiegand *et al.*, 1984; Tsou *et al.*, 1996).

#### **2.4.6. Mercurio (Hg)**

##### **2.4.6.1. Fuentes y usos**

El Hg es un elemento traza no esencial que es tóxico para la biota acuática a elevadas concentraciones; existe en el ambiente en una amplia variedad de formas orgánicas e inorgánicas (Andren y Nriagu, 1979; Eisler, 1987; Baird, 2001). Los niveles de Hg en los sedimentos de ríos, lagos y estuarios se han incrementado como resultado directo de las actividades humanas. Durante los últimos 100 años, se ha estimado que más de 500 mil toneladas métricas de Hg entraron a la atmósfera, hidrosfera y superficie del suelo, con la eventual deposición en el subsuelo y sedimentos (Eisler, 1987; OECD, 1994; CCME, 1999).

Varias actividades que contribuyen significativamente al ingreso mundial de Hg incluyen la combustión de combustibles fósiles, minería y reprocesamiento de oro, cobre y plomo, operaciones de plantas de cloro-álcali, y eliminación de pilas y lámparas fluorescentes (NAS, 1978; CCME, 1999). El ambiente juega un papel importante en la movilización de Hg (Figura 12); 25-30% de la carga total de Hg atmosférico es de origen antropogénico (NAS, 1978; OECD, 1994).

El Hg de fuentes naturales ingresa directamente a la biosfera como un gas, en la lava (de actividad volcánica terrestre y oceánica), en solución, o en forma particulada; el cinabrio ( $\text{HgS}$ ), por ejemplo, es un mineral común en depósitos de aguas termales y la mayor fuente natural de

Hg (Eisler, 1987). El ciclo global del Hg implica desgasificación desde la corteza terrestre y la evaporación procedente de los cuerpos de agua, el transporte atmosférico (vapor de Hg), y la deposición de Hg de nuevo en la tierra y agua. El Hg se encuentra en sedimentos, particularmente los oceánicos, donde el tiempo de retención puede ser muy largo, y donde puede continuar la contaminación a los organismos acuáticos (OECD, 1994; CCME, 1999).

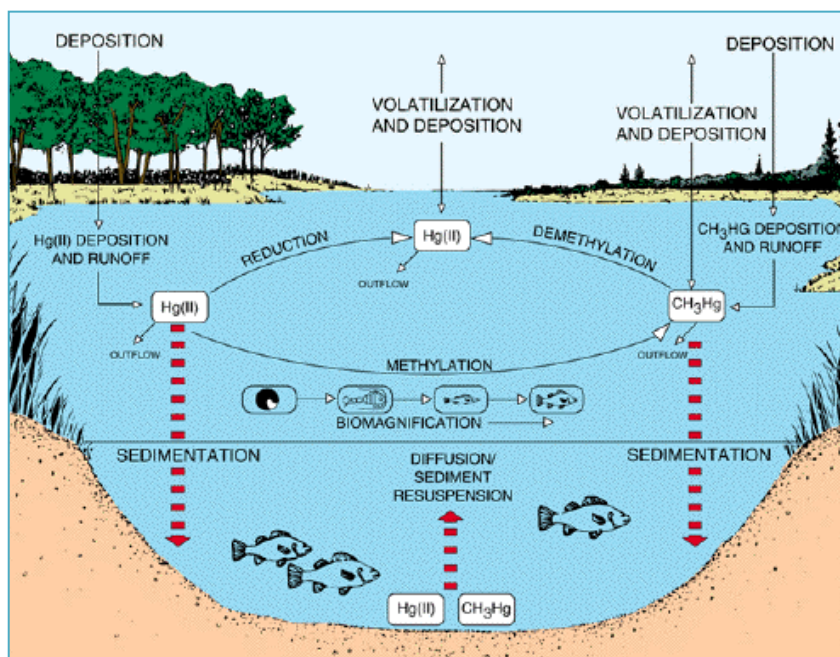


Figura 12. Las vías en el ciclo del Hg en ambientes acuáticos son muy complejas. Las varias formas del Hg pueden ser convertidas a una siguiente, la más importante es la conversión a MeHg, la forma más tóxica. Por último, el Hg termina en el sedimento, peces y vida silvestre, o regresa a la atmósfera por volatilización. Esquema tomado de Mercury Pollution: Integration and Synthesis (citado en USGS, 1997).

En los ecosistemas acuáticos, la eliminación de la fuente de Hg antropogénico resulta en una lenta disminución en su contenido en sedimentos y biota. La tasa de pérdida depende, en parte, del grado inicial de contaminación, forma química del Hg, condiciones físicas y químicas del sistema, y el tiempo de rotación hidráulica (NAS, 1978).

#### 2.4.6.2. Propiedades químicas y bioquímicas

Los tres estados que existen del Hg son: Hg metálico o elemental ( $Hg^0$ ), el ion mercurioso ( $Hg_2^{2+}$ ), y el ion mercuríco ( $Hg^{2+}$ ) (Andren y Nriagu, 1979); ellos pueden formar parte de compuestos tanto orgánicos como inorgánicos. Entre las especies mercurícas, las formas inorgánicas son las más tóxicas (USEPA, 1980c; Eisler, 1987).

El  $\text{Hg}^0$  es muy volátil y no es fácilmente soluble en agua, aunque el agua natural tiende a estar sobresaturada con  $\text{Hg}^0$  en comparación con el aire, esto resulta en su volatilización (NAS, 1978; Eisler, 1987). El  $\text{Hg}_2^{2+}$  se combina más comúnmente con moléculas inorgánicas, mientras los compuestos de  $\text{Hg}^{2+}$  son altamente estables y más numerosos que el de  $\text{Hg}_2^{2+}$  (OECD, 1994).

La forma  $\text{Hg}^{2+}$  se puede transformar mediante procesos bióticos (microbiano) y abióticos para formar compuestos alquilméricos como el monometilmercurio ( $\text{CH}_3\text{Hg}^+$ ), dimetilmercurio [ $(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$ ], y los compuestos de arilo como el fenil-mercurio (NAS, 1978; USEPA, 1980c; WHO, 1990).

El monometilmercurio, más conocido como metilmercurio (MeHg), es la especie más peligrosa debido a su alta estabilidad, solubilidad en lípidos, y sus propiedades iónicas que llevan a una alta capacidad de penetrar las membranas celulares (Suzuki *et al.*, 1991; Mason *et al.*, 1995). El MeHg se acumula fácilmente en la biota acuática (WHO, 1989; Beckvar *et al.*, 1996).

Varios factores influyen la tasa de producción total de MeHg incluyendo: la concentración y disponibilidad de  $\text{Hg}^{2+}$ , composición de la población microbiana, sustrato nutritivo y mineral, pH, temperatura, potencial redox, materia orgánica disuelta y particulada, salinidad, Fe y sulfuros. En última instancia, la metilación neta de Hg en sedimentos es dictado por la bioacumulación del ion mercurio para la metilación y la actividad de los microorganismos (CCME, 1999).

En sedimentos anóxicos, el Hg rápidamente se une con los sulfuros disponibles para formar sulfuro de mercurio ( $\text{HgS}$ ), un compuesto relativamente estable que permanece no reactivo bajo condiciones anóxicas y adsorbe o coprecipita con ácidos de sulfuro volátil y pirita. En sedimentos óxicos, el  $\text{HgS}$  puede oxidarse a sulfato, el cual es más soluble, haciendo al ion Hg disponible para la absorción biológica o uniéndose con disolventes orgánicos (por ejemplo, ácidos húmicos y fúlvicos) (Environment Canada, 1997) formando complejos estables (Suzuki *et al.*, 1991).

La alta afinidad del Hg por ligandos orgánicos en partículas o coloides significa que es fácilmente transportado hacia los sedimentos desde la columna de agua (USEPA, 1980c; Eisler, 1987; CCME, 1999). El comportamiento del Hg en sedimento y la biodisponibilidad del mismo para organismos acuáticos son dependientes de un número de factores, incluyendo el pH, potencial redox y temperatura. Además, la composición geoquímica de los sedimentos (por ejemplo, tamaño de partícula, contenido de materia orgánica y contenido de sulfuros y óxidos metálicos) y factores biológicos (por ejemplo, conducta alimenticia y tasa de absorción)

afectarán la bioacumulación del Hg. Estos factores también afectan la tasa de metilación y demetilación del Hg, los cuales son procesos críticos en el destino y distribución del Hg en los sistemas acuáticos (*Environment Canada*, 1997).

La actividad bacteriana aumenta con el incremento de la temperatura y disponibilidad de carbono orgánico biodegradable. Por lo tanto, la tasa de metilación tiende a ser muy alta en la superficie del sedimento con la materia orgánica que es recién depositada, y en los sedimentos cálidos poco profundos donde tiene lugar y es alta la actividad bacteriana. Debido a que una variedad de organismos viven o están en contacto con los sedimentos, estos pueden actuar como una importante ruta de exposición para los mismos (CCME, 1999).

La asimilación del MeHg en animales acuáticos es por contacto directo o a través de la dieta (NAS, 1978; USEPA, 1980c; WHO, 1990). La alta afinidad del  $\text{Hg}^{2+}$  a los grupos  $-\text{SH}$  de las proteínas, es un mecanismo importante para la actividad biológica de este metal (Baird, 2001). La acción exacta del Hg no es fácil de determinar debido a la amplia distribución de los grupos  $-\text{SH}$  en el organismo; sin embargo, se incluyen la inactivación de diversas enzimas, proteínas estructurales, o procesos de transporte, y la alteración de la permeabilidad de la membrana celular por la formación de mercáptidos (ATSDR, 1999).

El  $\text{Hg}^{2+}$  se puede unir al grupo tiol de la cisteína, formar un complejo en el que los enlaces de valencia unen el átomo de Hg al de Fe adyacente y al S en un ángulo determinado que crea un producto similar en estructura al aminoácido esencial metionina (Clarkson, 1995). Por consiguiente, el MeHg puede cruzar la barrera hemato encefálica como un aminoácido a través de un sistema portador (es decir, el transporte no es solo del resultado de la solubilidad en lípidos del MeHg). La absorción de MeHg por el cerebro se inhibe por la presencia de otros aminoácidos tales como leucina, metionina, fenilalanina, y otros aminoácidos neutros grandes (Clarkson, 1995). Los complejos de MeHg con cisteína o glutatión se han identificado en sangre, hígado y bilis (Aschner y Aschner, 1990).

La unión del MeHg también puede ocurrir en otros sitios (por ejemplo, grupos carboxilo, amino) que están menos favorecidos que los grupos  $-\text{SH}$ . A través de alteraciones del estado de los grupos  $-\text{SH}$  intracelular, el Hg puede promover el estrés oxidativo, peroxidación de lípidos, disfunción mitocondrial, y cambios en el metabolismo del grupo hemo. Las alteraciones inducidas por Hg, incluyen un aumento del estrés oxidativo, alteración de la formación de microtúbulos, aumento de permeabilidad de la barrera sangre-cerebro, interrupción de la síntesis de proteínas, interrupción de replicación del ADN y la actividad del ADN polimerasa, deterioro de la transmisión sináptica, disrupción de la membrana, deterioro de la respuesta inmune, y

alteración en la homeostasis del Ca. Estas alteraciones pueden estar actuando solos o en combinación (ATSDR, 1999).

Se ha demostrado que el  $\text{HgCl}_2$  causa la despolarización de la membrana mitocondrial interna, con el consiguiente aumento en la formación de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Lund *et al.*, 1993). Estos hechos se suman a la depleción de glutatión y la oxidación del nucleótido piridina mediados por  $\text{Hg}^{2+}$ , creando una condición de estrés oxidativo caracterizada por aumento de susceptibilidad de la membrana mitocondrial a la peroxidación lipídica dependiente del Fe. Lund *et al.*, (1993) postularon, además, que las alteraciones inducidas por el Hg en la homeostasis del Ca mitocondrial pueden exacerbar el estrés oxidativo inducido por  $\text{Hg}^{2+}$  en células de riñón. Como resultado, numerosos cambios bioquímicos pueden ocurrir, incluyendo el exceso de excreción de porfirinas en la orina (porfirinuria). Miller y Woods (1993), encontraron que los complejos de Hg-tiol poseen actividad redox y que promueven la oxidación del porfirinógeno y, posiblemente, otras biomoléculas.

#### **2.4.6.3. Efectos en la biota acuática**

El MeHg tiene la capacidad de biomagnificación en la cadena alimenticia y la posibilidad de ocurrencia de los efectos adversos por exposición a Hg en un sitio particular depende de la sensibilidad de la especie y de criterios de valoración examinados (CCME, 1999).

Las concentraciones tóxicas de sales de Hg son desde menos de 0,1  $\mu\text{g/L}$  hasta más de 200  $\mu\text{g/L}$  para las especies representativas de organismos marinos y de agua dulce (Eisler, 1987). Las concentraciones menores a 2  $\mu\text{g/L}$  se asocian generalmente con las primeras etapas de desarrollo y larga exposición. El Hg es el metal más tóxico para los organismos acuáticos, y los compuestos organomercuriales muestran el mayor potencial biocida (Eisler, 1987). Además, la toxicidad puede ser mayor a elevada temperatura (Armstrong, 1979), en salinidades reducidas en organismos marinos (McKenney y Costlow, 1981), y en presencia de otros metales como el Zn y Pb (Parker, 1979).

El Hg en concentraciones relativamente bajas afecta la reproducción, crecimiento, comportamiento, metabolismo, química de la sangre, osmorregulación e intercambio de oxígeno en organismos marinos y de agua dulce. En general, la acumulación de Hg por la biota acuática es rápida, mientras la depuración es lenta, siendo el MeHg el compuesto más efectivo en acumularse y producir efectos adversos (Eisler, 1987).

Los signos de intoxicación aguda por Hg en peces incluyen el aumento de la frecuencia respiratoria, pérdida de equilibrio y lentitud (Armstrong, 1979). Mientras los signos de intoxicación crónica incluyen emaciación (debido a la pérdida de apetito), lesiones cerebrales,

cataratas, disminución de la respuesta a los cambios en la intensidad de la luz, incapacidad para capturar el alimento, coordinación motora anormal y diversos comportamientos erráticos (Armstrong, 1979; Hawryshyn *et al.*, 1982).

#### **2.4.6.4. Efectos en el hombre**

Uno de los casos más conocidos y ampliamente documentados de envenenamiento por Hg, conocido como enfermedad de Minamata, ocurrió en la bahía del mismo nombre, al suroeste de Kyushu en Japón, entre los pescadores y sus familias (NAS, 1978; Eisler, 1987; ATSDR, 1999; Doi *et al.*, 1984).

La fuente de Hg estuvo en la descarga de residuos de una planta de acetaldehído que utilizaba Hg inorgánico como catalizador; entre 1932 y 1968, la bahía de Minamata recibió por lo menos 260 toneladas de Hg, y quizás más de 600. Un trastorno neurológico grave fue reconocido a finales de 1953 y alcanzó proporciones epidémicas en 1956; 111 casos de intoxicación se registraron a finales de 1960 y 41 muertes en agosto de 1965. Para 1982, había 1800 víctimas humanas por intoxicación de Hg dentro de una población total de 200,000. Los síntomas evidenciados por las víctimas humanas incluyeron deficiencias sensoriales, constricción de los campos visuales, pérdida auditiva, ataxia, y trastornos del habla. Los casos congénitos fueron acompañados por una alteración del desarrollo físico y mental, el 6% de bebés nacidos en Minamata tenían parálisis cerebral (frente a 0.5% en otras partes) (Eisler, 1987).

En la enfermedad de Minamata, el MeHg se concentró a un alto nivel en pescados y mariscos, y se biomagnificó en la cadena alimentaria. Cuando estos peces y mariscos fueron consumidos por los seres humanos, el MeHg se acumuló gradualmente hasta superar un valor umbral, provocando intoxicación; así, gatos, perros, ratas, aves y cerdos envenenados, se comportaban erráticamente y murieron; cuervos volando de repente cayeron al mar y se ahogaron, y un gran número de peces muertos fueron vistos flotando en la superficie del mar (Doi *et al.*, 1984).

#### **2.4.7. Zinc (Zn)**

##### **2.4.7.1. Fuentes y usos**

Históricamente el Zn ha sido utilizado con fines industriales, ornamentales o utilitarios por cerca de 2,000 años y pudo haber sido usado como ungüento para el tratamiento de lesiones en piel por los antiguos egipcios y mediterráneos (NAS, 1979).

En 1934, se demostró de manera concluyente que el Zn es esencial para el crecimiento normal y desarrollo en los animales (Prasad, 1979; ATSDR, 2005).

Los usos del Zn incluyen la producción de aleaciones no corrosivos, productos de acero y hierro galvanizado, y el tratamiento terapéutico de la deficiencia de Zn (Elinder, 1986). Este metal se encuentra en el carbón y muchos productos manufacturados tales como aceites de motor, lubricantes, neumáticos y aceites combustibles (NAS, 1979; Eisler, 1993).

Las principales fuentes de vertidos antropogénicos en el medio ambiente incluyen los galvanizadores, fundiciones y procesadores de minerales donde grandes cantidades de Zn se emiten a la atmósfera (Elinder, 1986), el drenaje de operaciones mineras activas e inactivas, las aguas residuales domésticas e industriales, la combustión de combustibles fósiles y residuos sólidos, la escorrentía de carreteras, la corrosión de aleaciones de Zn y superficies galvanizadas, y la erosión de los suelos agrícolas (Buhl y Hamilton, 1990).

#### **2.4.7.2. Propiedades químicas y bioquímicas**

El Zn se encuentra en la superficie terrestre y debido a su carácter reactivo no se encuentra libre en la naturaleza. Posee dos estados de oxidación comunes,  $Zn^0$  y  $Zn^{2+}$ . Hay, aproximadamente, 55 formas mineralizadas de Zn que forman una variedad de diferentes compuestos, tales como sulfatos, cloruros y óxidos (Goodwin, 1998; WHO, 2001).

Las formas estables de Zn forman combinaciones con muchas sustancias como los ácidos húmico y fúlvico y un amplio rango de compuestos. El Zn metálico ( $Zn^0$ ) es insoluble, mientras las solubilidades de los compuestos de Zn van de insoluble (óxidos, carbonatos, fosfatos y silicatos) a extremadamente soluble (sulfatos y cloruros) (*Environment Canada*, 1996).

Las uniones en los compuestos de Zn tienden a ser covalentes, como en sulfuros y óxidos (Goodwin, 1998). Este metal tiene una fuerte tendencia a reaccionar con compuestos ácidos, alcalinos e inorgánicos. Como el Zn es anfótero (capaz de reaccionar químicamente, ya sea como un ácido o una base), también forma cincatos como  $[Zn(OH)_3H_2O]^-$  y  $[Zn(OH)_4]^{2-}$  (Ohnesorge y Wilhelm, 1991; Goodwin, 1998; WHO, 2001).

En agua, el ion Zn libre puede coordinarse con seis moléculas de agua para formar el ionaquo ( $[Zn(H_2O)_6]^{2+}$ ), en ausencia de otros agentes complejantes o adsorbentes (Spear, 1981). Así, el Zn en agua dulce existe casi exclusivamente como el ion aquo a  $pH > 4$  y  $< 7$  (Eisler, 1993). A  $pH 6$ , las formas dominantes de Zn disuelto son el ion libre (98%) y sulfato de Zn (2%); mientras a  $pH 9$  son el ion monohidroxido (78%), carbonato (16%), y el ion libre (6%) (USEPA, 1987).

Las especies químicas solubles de Zn son los más biodisponibles y tóxicos, el ion  $\text{Zn}^{2+}$  predomina sobre otras especies disueltas y es sospechoso de ser más tóxico; sin embargo, las concentraciones de los iones  $\text{Zn}^{2+}$  disminuyen en condiciones de alta alcalinidad,  $\text{pH} > 7,5$ , y aumento de la salinidad (Spear, 1981).

La movilidad del Zn en ecosistemas acuáticos es función de la composición de los sedimentos en suspensión y en el lecho, concentraciones de Mn y Fe particulado y disuelto, pH, salinidad, concentraciones de ligandos complejantes, y la concentración de Zn (USEPA, 1987; Eisler, 1993; *Environment Canada*, 1996).

En agua dulce, el Zn es más soluble a bajo pH y baja alcalinidad, por ejemplo, 10 mg de Zn/L a pH 6 disminuye a 6,5 mg a pH 7, 0,65 mg a pH 8, y 0,01 a pH 9 (Spear, 1981); por lo tanto, el Zn es más móvil y se incrementa la disponibilidad para los organismos a un pH bajo, especialmente por debajo de cinco (CCME, 1999). En pH menor a 7,7 el Zn se encuentra como  $\text{Zn}^{2+}$  en solución en el suelo, mientras que a pH mayor a 7,7 la forma dominante es  $\text{Zn}(\text{OH})_2$  (Giordano y Mortvedt, 1980).

La cantidad de Zn biodisponible será determinado por la cantidad presente que es soluble o que puede ser soluble. Debido a la complejidad de las interacciones del Zn en el suelo, su transporte no puede ser predicho exactamente (CCME, 1999).

El Zn es un nutriente esencial para todos los organismos vivos, es constituyente de un gran número de metaloenzimas, entre ellas, alcohol deshidrogenasa, fosfatasa alcalina, anhidrasa carbónica, leucina aminopeptidasa, superóxido dismutasa, ADN y ARN (ácido ribonucleico) polimerasa, indispensables para el mantenimiento de la estructura del ácido nucleico de los genes y para el crecimiento y división celular (Leonard y Gerber, 1989; USEPA, 1987; Eisler, 1993; ATSDR, 2005).

El Zn entra en el tracto gastrointestinal como un componente proteico de bajo peso molecular, secretado por las glándulas salivales, mucosa intestinal, páncreas e hígado (Goyer, 1986). Por lo general, sólo el Zn disuelto es adsorbido o ligado; sin embargo, la disolución de Zn probablemente se produce en el tracto digestivo de los animales después de la ingestión de las partículas que contienen Zn sin disolver (USEPA, 1987).

Luego de la ingestión, el Zn se absorbe a través de la mucosa intestinal, membrana alveolocapilar, y membranas de órganos. El proceso de absorción intestinal parece ser un proceso mediado por un portador saturable a niveles bajos de Zn que implica una proteína intestinal rica en cisteína (Eisler, 1993; ATSDR, 2005). Dentro de la luz intestinal, la metionina, histidina, cisteína, glutatión reducido, citrato, y la prostaglandina  $\text{E}_2$  incrementan la absorción



intestinal de Zn (Song *et al.*, 1992); mientras que los inhibidores inorgánicos incluyen al Cd, Cu, Ca, y Fe ferroso (Yoshida *et al.*, 1993; ATSDR, 2005). El mecanismo de inhibición no ha sido esclarecido, pero se cree que implica la competencia por los sitios de unión de Zn en las células de la mucosa intestinal; también se ha sugerido un efecto sobre la carga distribuida en la membrana mucosa (Foulkes, 1985).

Los inhibidores orgánicos, incluyen el fitato y algunas fibras dietéticas, el complejo con Zn puede disminuir su disponibilidad. En las células mucosas, el Zn está asociado con MT, la cual contribuye a la homeostasis y a la mayor absorción. La liberación de Zn a partir de ligandos de proteínas intracelulares y su transferencia a la sangre puede implicar la difusión de complejos de glutatión y compuestos similares (Foulkes, 1993).

Aproximadamente el 67% de Zn en plasma se une a la albúmina y alrededor de 3% se almacena en el hígado (Eisler, 1993). Los complejos solubles organometálicos de Zn son absorbidos pasivamente a través de las vellosidades intestinales; y los complejos solubles no difusibles se transportan en productos intestinales y se excretan en las heces (NAS, 1979). La pérdida de Zn en la orina y sudor suele ser pequeña (ATSDR, 2005).

El aumento en la absorción de Zn, por ejemplo, se asocia con bajo peso corporal, estado deficiente de Zn y varias prostaglandinas (Elinder, 1986, Goyer 1986). El tiempo medio de persistencia de Zn en la mayoría de tejidos mamíferos es entre 100 y 500 días, siendo más largo en hueso y músculo, y más corto en hígado (Elinder, 1986).

#### **2.4.7.3. Efectos en la biota acuática**

Los efectos adversos de Zn sobre el crecimiento, supervivencia y reproducción se producen en las especies sensibles representativas de plantas acuáticas, protozoos, esponjas, moluscos, crustáceos, equinodermos, peces y anfibios en concentraciones nominales de agua entre 10 y 25 mg Zn/L (Eisler, 1993).

La toxicidad de Zn para los organismos acuáticos depende de su forma física y química, la toxicidad de cada forma, y el grado de interconversión entre las diversas formas (USEPA, 1987). La toxicosis de Zn afecta a peces de agua dulce por la destrucción del epitelio branquial y la consecuente hipoxia tisular. Los signos de intoxicación aguda en peces de agua dulce incluyen insuficiencia osmoregulatoria, acidosis y bajas tensiones de oxígeno en la sangre arterial, y deficiente intercambio gaseoso en la superficie de las branquias y tejidos internos (Spear, 1981).

El Zn ejerce una influencia crítica en sistemas inmunes de mamíferos y piscine; los linfocitos de los pronefros de la carpa común (*Cyprinus carpio*) se transformaron mediante diversos agentes mitogénéticos (Ghanmi *et al.*, 1989).

Las altas concentraciones de los compuestos de Zn causan efectos adversos en la morfología y la fisiología de los peces. Jones (1938) reportó daños en branquias y secreciones densas de moco en el pez espinoso (*Gasterosteus aculeatus*) muerto por la alta concentración de Zn. Se cree que la mucosidad es la principal causa de muerte a través de la obstrucción mecánica de las branquias; por otro lado, Lloyd (1960) determinó que la causa de la muerte de los peces en soluciones de sulfato de Zn no era por la precipitación de la mucosidad en las branquias, sino probablemente fue inducida por daños del Zn en el epitelio branquial.

Los efectos del zinc disuelto en las branquias del pez espinoso se estudiaron por Matthiessen y Brafield (1973), quienes observaron desprendimiento de células epiteliales en la exposición al Zn. Muchas especies de peces con intoxicación aguda se recuperaron cuando se transfirieron a agua libre de Zn, el epitelio celular se regeneró; pero, fueron acompañados por la aparición de células cloro en las laminillas secundarias. Se postuló que las células cloro se producen como una respuesta directa o indirecta a la entrada de iones de Zn. Mediante análisis bioquímico, Burton *et al.* (1972), confirmó que el cambio fisiológico antes de la muerte, en los estudios de toxicidad aguda, fue la hipoxia del tejido. La hipoxia está directamente relacionada al daño branquial que interrumpe el intercambio normal de gas en la superficie del mismo.

Crandall y Goodnight (1962) expusieron a guppies (*Poecilia reticulata*) a concentraciones de toxicidad aguda por Zn, estas causaron graves daños citológicos en las branquias y algunas coagulaciones de mucosidad en grandes áreas del cuerpo. En contraste, la toxicidad crónica de compuestos de Zn causó debilitamiento general y cambios histológicos generalizados en muchos órganos, pero no en las branquias.

La toxicidad del Zn para los organismos acuáticos depende de la forma física y química de Zn, la toxicidad de cada forma, y el grado de interconversión entre las diversas formas. Las plantas acuáticas y peces son relativamente poco afectados por el Zn en suspensión, pero muchos invertebrados acuáticos y algunos peces pueden verse afectados negativamente por la ingestión suficiente de partículas que contienen Zn (USEPA, 1987; Eisler, 1993).

#### **2.4.7.4. Efectos en el hombre**

Existe un amplio margen de seguridad entre la ingesta normal y la que produce efectos nocivos (Eisler, 1993). En la mayoría de los casos, los niveles dietéticos de hasta 100 veces el requerimiento diario durante períodos largos no muestran efectos discernibles (NAS, 1979;

Goyer, 1986; Leonard y Gerber, 1989). La posibilidad de intoxicación oral en seres humanos adultos es inusual por la baja (40%) biodisponibilidad de Zn en el tracto gastrointestinal y las altas tolerancias reportados en ganado doméstico y pequeños animales de laboratorio (Llobet *et al.* 1988b).

En seres humanos que ingerieron hasta 12 g de Zn elemental, equivalente a 33 mg/kg de peso corporal para un adulto de 60 kg, durante un período de dos (2) días no mostraron ninguna evidencia de toxicidad hematológica, hepática o renal (Goyer, 1986).

El exceso en la ingesta de Zn afecta negativamente la supervivencia de todos los mamíferos incluyendo los seres humanos probados y produce una amplia variedad de trastornos de tipo neurológico, hematológico, inmunológico, renal, hepático, cardiovascular, de desarrollo, y efectos genotóxicos (ATSDR,2005).

Las especies más sensibles de mamíferos mostraron efectos adversos en los niveles dietéticos de 80 a 90 mg de Zn/kg en humanos, 300 mg Zn/kg ración en gatos domésticos, y 500 mg de Zn/kg de alimento en ratas; concentraciones de agua potable de 300 mg/L en ratones domésticos y 800 mg de Zn/L en ratas de laboratorio blancas, también fueron reportados (Eisler, 1993).

La enfermedad llamada fiebre delos humos metálicos, se encuentra comúnmente en los trabajadores industriales expuestos a humos de Zn y se caracteriza por la irritación pulmonar, fiebre, escalofríos, y la gastroenteritis (Saxena *et al.*, 1989b). Los ataques comienzan 4-8 horas después de la exposición y la recuperación, en 24 a 48 horas. La patogénesis de la enfermedad es desconocida, pero se cree que es una respuesta inmune a la inhalación de óxido de Zn (Mueller y Seger, 1985) y que puede estar asociada con pirógenos endógenos liberados por lisis celular (Goyer, 1986).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Lugar de muestreo

Se realizó el 14 de Febrero de 2012 en la laguna Mamacocha (Figura 13, Anexo 1), ubicada a 3861 metros sobre el nivel del mar, perteneciente a la comunidad de Namacocha, centro poblado El Alumbre, distrito de Bambamarca, provincia de Hualgayoc, departamento de Cajamarca. La laguna dista, aproximadamente, 4,5 Km de una planta de cal ( $6^{\circ}55'36''S$  y  $78^{\circ}28'16''O$ ) y 8 km de una mina aurífera ( $6^{\circ}57'35''S$  y  $78^{\circ}28'18''O$ ) (Figura 14). La concesión acuática pertenece a una empresa privada y realiza la acuicultura de la trucha Arcoíris desde el año 2008 en la zona.

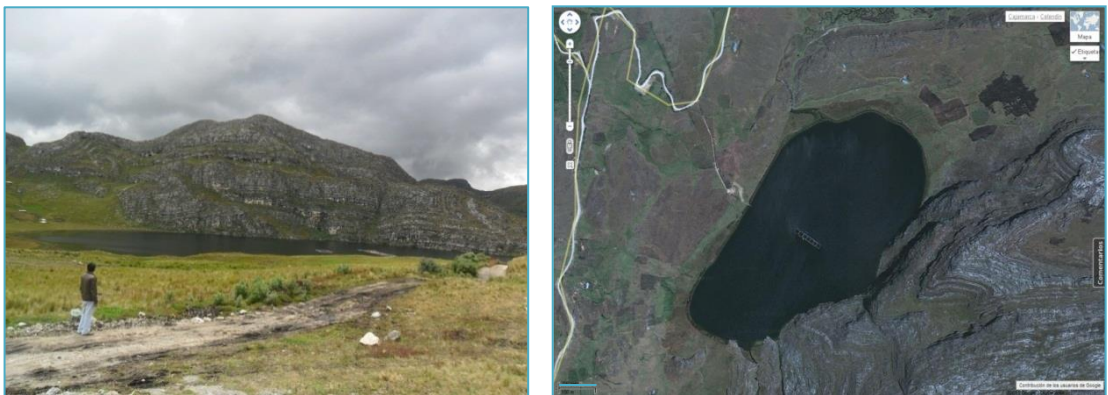


Figura 13. Vista panorámica y satelital de la laguna Mamacocha en Cajamarca. La imagen satelital pertenece a Google maps a escala 100 m.

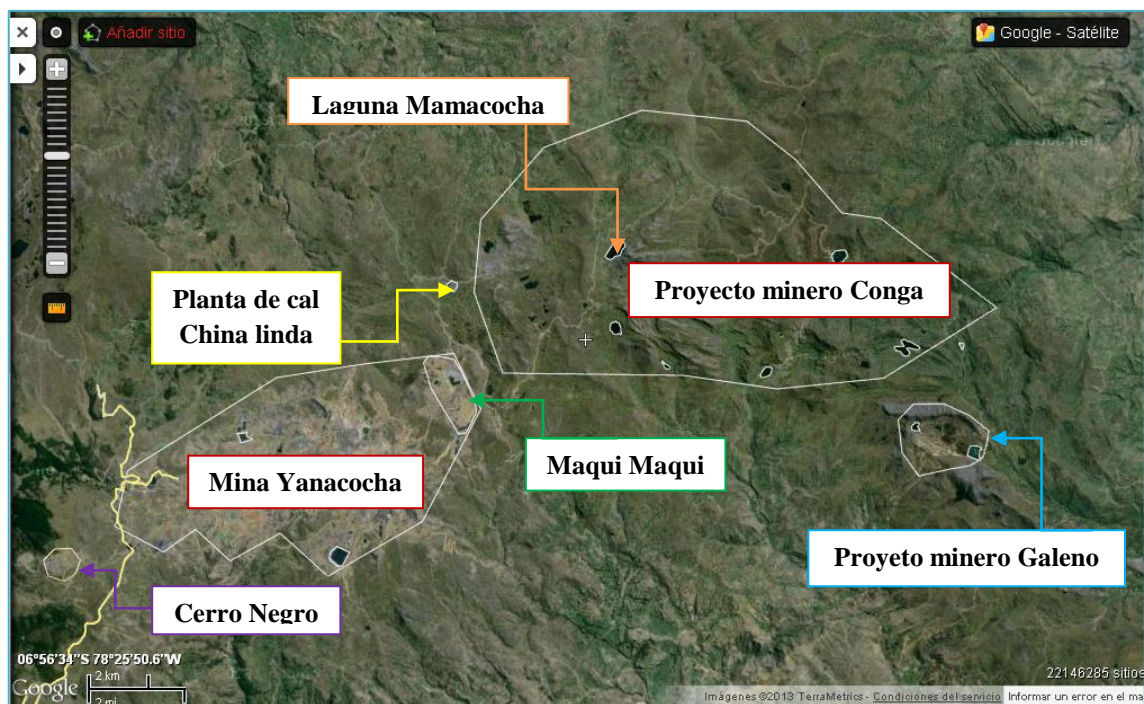


Figura 14. Geografía de la situación de influencia minera de la laguna Mamacocha en Cajamarca. Imagen satelital de Google maps a escala 2 Km.

### 3.2. Animales de estudio

Se trabajó con la trucha Arcoíris de cultivo, las cuales ya tenían tres (3) meses de permanencia en la laguna hasta el día del muestreo como parte de su etapa de acabado, según manifestó el personal administrativo. Durante esos tres meses, los peces fueron criados bajo un sistema intensivo en jaulas flotantes y alimentadas con alimento comercial. Los 35 peces colectados al azar tuvieron un peso promedio de  $200 \text{ g} \pm 1,7$ , longitud promedio de  $26,65 \text{ cm} \pm 1,43$  y edad de entre ocho (8) y nueve (9) meses; estas características en peso, longitud y edad son consideradas aptas para la comercialización (Figuras 15 y 16).

### 3.3. Materiales y métodos

#### 3.3.1. Concentración de metales pesados en agua

Un muestreo, en diciembre de 2011, fue realizado por la concesión acuática como parte de su monitoreo de calidad del agua; mientras el presente estudio, en febrero de 2012, colectó una muestra de un (1) litro de agua, el cual fue realizado de acuerdo a indicaciones del laboratorio encargado del análisis, así se colectó la muestra de agua a un (1) metro de profundidad aproximadamente, del centro de la jaula flotante en la estación de impacto (Anexo 2). Para ello, se procedió a sumergir el frasco para enjuagarlo dos veces, luego se llenó y añadió 1,5 ml de

ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ). Posteriormente, se transportó la muestra para su procesamiento. La concentración de metales pesados fue determinada por espectrofotometría de absorción atómica (EAA), de acuerdo al Método 245.1 se analizó el Hg, descrito en USEPA (1999), y para el As, Cd, Cr, Cu, Pb y Zn se usó el Método 200.8, descrito en USEPA (1994a).

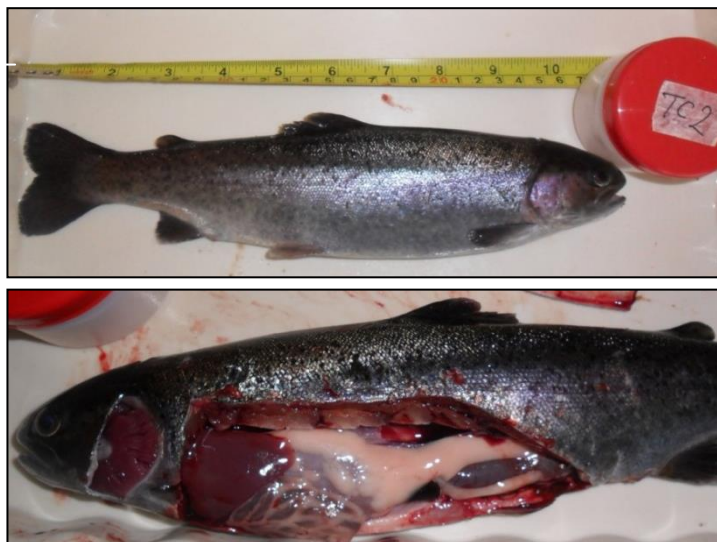


Figura 15. Vista externa (arriba) e interna (abajo) de cavidad celómica de trucha Arcoiris TC2, sacrificada por corte medular.



Figura 16. Vista externa (arriba) e interna (abajo) de cavidad celómica de trucha Arcoiris TC4, sacrificada por corte medular.



### 3.3.2. Concentración de metales pesados en tejidos

Para el sacrificio los peces fueron primero anestesiados en grupos de 10 individuos dentro de un contenedor de 10 L de capacidad con una solución de aceite de clavo de olor, principio activo eugenol (Mazzafera, 2003) a una dosis de 12,5 mg de isoeugenol por un (1) L de agua (Portal Centrovét, 2013); posteriormente, se sacrificaron por corte medular a nivel de la articulación entre el cráneo y la primera vértebra (Ferguson, 2006), luego se expusieron los órganos internos en busca de lesiones macroscópicas. A continuación, se colectaron muestras de branquias, hígado y músculo estriado esquelético y se pesaron en una balanza digital (AND EK-300i, max. 300 g y d= 0,01 g). Se obtuvieron 210 g de branquias, 190 g de hígado (dividido en 2 partes iguales) y 3000 g de músculo estriado esquelético (dividido en 5 partes iguales); las muestras fueron guardadas en bolsas con cierre hermético y conservadas en cadena de frío a -4°C dentro de coolers hasta su procesamiento en la ciudad de Lima. Para determinar la concentración de Hg en tejido se empleó el Método oficial 971.21 descrito en AOAC (2005a), y para determinar la concentración de As, Ba, Cd, Cr, Cu y Zn se usó el Método oficial 985.01, de acuerdo a AOAC (2005b).

### 3.3.3. Factor de bioacumulación (FBA)

La bioacumulación es el resultado neto de procesos competitivos de absorción química dentro del organismo a través de la superficie respiratoria y de la dieta, y la eliminación de sustancias desde el organismo incluyendo intercambio respiratorio, heces y biotransformación metabólica del compuesto original. El FBA es medido como la relación entre la concentración de la sustancia química en un organismo y la concentración de la sustancia química disuelta libre en la columna de agua (Arnot y Gobas, 2006; Authman y Abbas, 2007), este valor se corresponde con un valor score del Cuadro 5, así a mayor FBA hay un mayor score y por ende un mayor grado de bioacumulación.

$$\text{FBA} = \frac{\text{Concentración de sustancia química en órgano del pez (mg/kg)}}{\text{Concentración de sustancia química en agua (mg/L)}}$$

Cuadro 5. Medidas del factor de bioacumulación (Ginawi, 2007).

Score	FBA
7	> 4000
3	1000 - 3999
2	700 – 999
1	300 - 699
0	< 300

### 3.3.4. Histopatología en tejido

Los peces usados para la concentración de metales pesados también fueron usados para la histopatología con hematoxilina y eosina (H&E). Se colectaron muestras de branquias, hígado y músculo estriado esquelético, las cuales se conservaron en envases individuales con formol buferado (10%). La observación de tejidos se realizó a través de un microscopio de luz Nikon ECLIPSE E100, ocular CFI 10X/18 y objetivos 100X, 400X y 1000X; las imágenes fueron obtenidas con ayuda de una cámara Nikon Coolpix S4100 de zoom óptico de 5X.

Las lesiones encontradas en cada tejido se clasificaron por la metodología de Bernet *et al.* (1999), la cual está basada en cinco reacciones patrón (Cuadro 6) que incluyen varias alteraciones de acuerdo a la clasificación de Sindermann (1979), Takashima e Hibiya (1995) y modificaciones de Bernet *et al.* (1999).

Cuadro 6. Clasificación de reacciones patrón (rp) de los cambios patológicos en tejido para la evaluación histopatológica en contaminación acuática (Bernet *et al.*, 1999).

Reacción patrón (rp)	Cambio patológico
Disturbios circulatorios	Condiciones patológicas del flujo sanguíneo y fluido tisular
Cambios regresivos.	Procesos que terminan en una reducción funcional o pérdida de un órgano por hipofunción de células y tejidos
Cambios progresivos.	Procesos que conducen a una incrementada actividad celular o tisular
Inflamación	Debido a que está asociada a otras reacciones patrón, se usará solo en exudado, activación de RES e infiltración
Tumor (neoplasia)	Proliferación celular y tisular descontrolada

De acuerdo a Bernet *et al.* (1999), cada lesión hallada y clasificada como una rp en cada tejido fue evaluada de acuerdo a dos factores: (1) la extensión del cambio patológico o alteración que es medido con un valor score de acuerdo al Cuadro 7, y (2) la importancia patológica de esa alteración que es definida como un factor de importancia (Cuadro 8). Estos dos factores obtenidos se multiplicaron y el producto representa el índice de una alteración en un tejido; cada tejido presentó más de una alteración para una rp, es decir un índice de alteración. La suma de todos los índices de alteración en un tejido resulta en un índice de tejido para cada pez y este será usado para compararlo los otros índices de tejido obtenidos.



Cuadro 7. Valor del score (a) en el grado de extensión lesional para la evaluación histopatológica en contaminación acuática (Bernet *et al.*, 1999) modificado por LHEPA.

Score (a)	Grado de lesión	Extensión en la sección de corte a 100X
0	Ausencia	Sin cambio
2	Leve	Presencia hasta 30%
4	Moderada	Presencia de 31 - 60%
6	Severa	Presencia difusa o más de 61%

Cuadro 8. Factor de importancia (w) empleado para la evaluación histopatológica en contaminación acuática (Bernet *et al.*, 1999).

Factor de importancia (w)	Importancia patológica
1	Mínima importancia patológica, la lesión es fácilmente reversible cuando la exposición al irritante acaba.
2	Moderada importancia patológica, la lesión es reversible en muchos casos si el estresor es neutralizado.
3	Marcada importancia patológica, la lesión es generalmente irreversible, conduciendo a una pérdida parcial o total de la función del órgano.

Los índices obtenidos en branquias, hígado y músculo estriado esquelético de los 35 peces son presentados en un Cuadro de intervalos de frecuencias para ubicar los índices más altos y de mayor repetición en cada tejido; así también el índice promedio obtenido en branquias, hígado y músculo se comparan para saber cuál es el tejido más afectado.

Para el análisis de la caracterización anatomohistopatológica se utilizó el análisis de frecuencia, indicando el porcentaje de cada variable con respecto a la población total analizada, como se indica en la formula siguiente:

$$\text{Frecuencia (\%)} \text{ de lesión} = \frac{(\text{N}^\circ \text{ de animales con lesión determinada por microscopía}) \times (100)}{\text{N}^\circ \text{ total de muestras}}$$

Por último, para la clasificación de los grados de degeneración grasa en tejido hepático se adoptó lo descrito por Rosenthal (2007) (Cuadro 9).

Cuadro 9. Grados de degeneración grasa en tejido hepático de trucha Arcoíris (Rosenthal, 2007).

Grado	Severidad	Extensión
I	Escasa presencia de microvacuolas predominantemente de borde definido (se mantiene la arquitectura del hepatocito).	Multifocal, hasta el 25% de toda la muestra/campo.
II	Leve presencia de micro y/o macrovacuolas de borde definido con mayor compromiso de las células hepáticas.	Multifocal, de 25 - 50% aproximadamente de toda la muestra/campo.
III	Moderada presencia de micro y macrovacuolas de borde definido, núcleo ligeramente desplazado con ligera distorsión de la arquitectura del hepatocito.	Difuso, de 50 - 75% aproximadamente de toda la muestra/campo.
IV	Severa presencia de macrovacuolas dentro del citoplasma del hepatocito, núcleo aplanado y ligeramente ovalado. Pérdida de la citoarquitectura de los hepatocitos y se encuentran muy unidos entre sí.	Difuso, de 75 - 100% aproximadamente de toda la muestra/campo.

## **IV. RESULTADOS**

Sabemos, por varias investigaciones, que la concentración de metales pesados en sedimento y en la columna de agua son cantidades muy variables por la participación de diversos factores bióticos y abióticos que lo afectan y que provocan la movilización de estas sustancias en distintas direcciones. Por ello, en el presente estudio no fue suficiente saber sólo las concentraciones en agua, sino también en el sedimento. Los datos obtenidos en sedimento fueron proporcionados por la concesión acuática y pertenecen a un informe de diciembre de 2011, donde también se encuentran datos de análisis de agua (físico-químico y metales) y los métodos de referencia que se emplearon (Anexo 2).

### **4.1. Concentraciones obtenidas en sedimento**

La concentración (mg/kg) de metales pesados se encontró en el siguiente orden: As>Cr>Pb>Cd>Hg. En el Cuadro 10 se muestran los valores obtenidos en los puntos LM-01 y LM-02, estación de impacto y referencia respectivamente, ambas dentro de la laguna (Anexo 2). Los valores hallados se compararon con los LMP de la Guía interina de calidad del sedimento de Canadá (CEQGs, 1999), debido a que el Perú no cuenta con una guía similar. Se halló que el As, Cd y Hg se encontraron por encima de los LMP. Para saber otras características obtenidas en el sedimento como granulometría, contenido de materia orgánica y otros, se puede revisar el Anexo 3.

Cuadro10. Concentración de metales pesados (mg/kg) en sedimento de la laguna Mamacocha de Cajamarca, Perú (Diciembre de 2011).

Metal pesado	Estaciones de muestreo		CEQGs (1999)	
	LM-01 <sup>1</sup>	LM-02 <sup>2</sup>	ISQG <sup>3</sup>	PEL <sup>4</sup>
As	38,94	14,26	5,90	17
Cd	1,21	1,02	0,60	3,50
Cr	11,07	8,42	37,30	90
Hg	0,79	0,41	0,17	0,49
Pb	9,13	7,77	35	91,30

1, 2, 3, 4 Estación de impacto: latitud 6° 54' 57,55'' y longitud 78° 25' 17,29''  
 Estación de referencia: latitud 6° 54' 58,34'' y longitud 78° 25' 18,78''  
 Interim Sediment Quality Guideline o Guía de calidad interina de sedimento  
 Probable Effect Level o Nivel de efecto probable.

#### 4.2. Concentraciones obtenidas en agua

La concentración (mg/L) de metales pesados en la estación de impacto, en diciembre, fueron: Ba>Zn>Cr>As>Cu. Dos meses después, en febrero, se encontró: Ba>Cr>Zn>As>Cu. Los resultados obtenidos en el Cuadro11, estuvieron por debajo de los LMP de ECA (MINAM, 2008; Anexo 4) y de CEQGs (1999).

Cuadro11. Concentración de metales pesados (µg/L) en la laguna Mamacocha de Cajamarca, Perú.

Metal pesado	Diciembre 2011		Febrero 2012	ECA (MINAM, 2008)	CEQGs (1999)
	LM-01	LM-02	LM-01		
As	1,7	2,2	1,4	10	5
Ba	13,3	13,4	12,2	700	
Cd	ND	ND	ND	4	0,017
Cu	0,8	0,7	0,4	20	2 - 4
Cr	3,3	3,4	4	Cr VI=50	Cr III=8,9 Cr VI=1
Hg	ND	ND	ND	0,1	0,1
Pb	ND	ND	ND	1	1 - 7
Zn	12,7	7,6	3,2	30	30

1 ND: No detectado.

Los parámetros físico-químicos del agua (Cuadro12) se compararon con los valores recomendados por los ECA (MINAM, 2008) y con fuentes que recomiendan límites para el cultivo de la trucha y calidad del agua. Los valores hallados se mantuvieron dentro de los límites recomendados.

Cuadro12. Parámetros físico-químicos del aguade la laguna Mamacocha en Cajamarca, Perú (Diciembre de 2011).

Parámetro físico-químico	Estaciones		ECA(MINAM, 2008)	Observaciones
	LM-01	LM-02		
Temperatura (°C)	11,2	10,8	-	11 – 15 (PRODUCE, 2004)
pH (1 - 14)	6,93	7,79	6,5 – 8,5	7-9 (PRODUCE, 2004)
Oxígeno disuelto (mg/L)	7,0	6,3	≥ 5	7 –9 (PRODUCE, 2004)
Conductividad (µS/cm)	267	263		50-500 (MINAM, 2010)
Salinidad (mg/L)	90	140		
Transparencia (m)	10	5		
Sólidos suspendidos totales(mg/L)	2	ND <sup>2</sup>	≤ 25	
Aceites y grasas(mg/L)	0,8	0,3	Ausencia de película visible.	
Demanda bioquímica de oxígeno(mg/L)	2,2	0,5	<5	
Dureza total(mg/L)	142,2	138,2		50 – 250 (PRODUCE, 2004)
Fosfatos(mg/L)	ND <sup>2</sup>	ND <sup>2</sup>	0,4	
Nitratos(mg/L)	0,038	0,036	5	Cantidades mínimas (MINAM, 2010)
Nitritos(mg/L)	0,003	0,003		Algunas décimas de mg/L (MINAM, 2010)
Nitrógeno amoniacal(mg/L)	ND <sup>2</sup>	ND <sup>2</sup>	<0,02	1,6de Nitrógeno total (ECA, 2008)
Sulfuros(mg/L)	ND <sup>2</sup>	ND <sup>2</sup>		0,002de Sulfuro de hidrogeno (ECA, 2008)
Detergentes aniónicos(mg/L)	ND <sup>2</sup>	ND <sup>2</sup>		
Coliformes totales <sup>1</sup>	21	4,5	2000	
Coliformes fecales <sup>1</sup>	4,5	4,5	1000	

1, 2 Unidad de medida en NMP/100 mL

ND: No detectado.

#### 4.3. Concentraciones obtenidas en tejido

La concentración de metales pesados (mg/kg) en branquias, presentó el siguiente orden Zn>Ba>Cu>Cr>Pb; mientras que tanto para hígado y músculo se encontró Zn>Ba>Cu>Cr>Pb>Cd. Como se aprecia en el Cuadro13, el Zn y Ba fueron los metales de mayor concentración en los tres tejidos analizados. La alta concentración de Zn en músculo estriado esquelético se comparó con las Tablas Peruanas de Composición (TPC), publicado por el MINSA (2009), la cual indica que en 100 g de trucha rosada (parte comestible) hay 0,66 mg de Zn; y por otro lado, también se comparó con el nivel máximo de ingesta tolerable de Zn para una persona adulta promedio, este valor es recomendado en cantidades de 25 y 40 mg al día por la EFSA (2006) y NAS (2001), respectivamente. En el caso del Ba, a pesar que su concentración en agua estuvo

dentro y muy por debajo del LMP de 700 µg/Lde ECA (MINAM, 2008), la concentración en branquias, hígado y músculo esquelético fueron superiores a los demás metales detectados, con excepción del Zn. Los LMP para el Ba no están disponibles en la bibliografía. Las concentraciones de Cu, Cr, Pb y Cd, en los tejidos se mantuvieron por debajo del LMP de EU (2006), ITP (2002) y de la Legislación Brasileña, citada en MINECO (2011), como se observa en la Cuadro13; mientras, el As y Hg no fueron detectados en ningún tejido.

Cuadro13. Concentración de metales pesados (mg/kg) en tejido de trucha Arcoíris de cultivo, (peso húmedo, n=35).

Metal	Branquias <sup>1</sup>	Hígado <sup>1</sup>	Músculo <sup>1</sup>	EU (2006)	ITP (2002)	Legisl. Brasil
As	ND <sup>2</sup>	ND <sup>2</sup>	ND <sup>2</sup>		4	1
Ba	3,42	6,2 ± 0,26	15,57 ± 7,96			
Cd	ND <sup>2</sup>	0,002 ± 0,0007	0,003 ± 0,002	0,05	0,05	1
Cu	0,14	2,92 ± 0,05	0,24 ± 0,05			30 <sup>3</sup>
Cr	0,009	0,016 ± 0,0009	0,05 ± 0,02		0,2	0,1 <sup>3</sup>
Hg	ND <sup>2</sup>	ND <sup>2</sup>	ND <sup>2</sup>	0,5	0,5	0,5
Pb	0,002	0,007 ± 0,0027	0,03 ± 0,01	0,3	0,2	2
Zn	4,66	9,14 ± 1,59	21,21 ± 9,26			

1, 2, 3 Media (branquias); media ± σ (hígado y músculo)  
 ND, no detectable  
 Valor para cualquier alimento.

#### 4.4. Factor de bioacumulacion (FBA)

La Cuadro14 nos indica los valores de FBA para los metales Zn, Ba y Cu, los cuales fueron los de mayor concentración en los tejidos analizados. Estos valores se compararon con el Cuadro 5 para obtener el score para cada metal en cada órgano. El score más alto (7) se obtuvo en el músculo estriado esquelético con el Zn, valores menores de score también fueron obtenidos para este metal en hígado y branquias. El Ba es el segundo metal en obtener mayor FBA en los tejidos analizados.

Cuadro14. FBA de Zn, Ba y Cu en branquias, hígado y músculo estriado esquelético de trucha Arcoíris de cultivo en Cajamarca, Perú.

Tejido	FBA		
	Zn (score)	Ba (score)	Cu (score)
Branquias	1456,25 (3)	280,33 (0)	35 (0)
Hígado	2856,88 (3)	507,79 (1)	729,75 (2)
Músculo esquelético	6628,13 (7)	1276,23 (3)	60 (0)

#### 4.5. Histopatología en tejido

La mayoría de las lesiones halladas, en los tres tejidos analizados, fueron calificadas con un score de cero a cuatro (0-4) y sólo algunas tuvieron un score de cinco (5). Las lesiones en los tres tejidos de cada individuo nos permiten considerar la importante distribución y efectos que posee el(los) agente(s) causante(s) en el organismo del pez. Las branquias presentaron diversas lesiones (Cuadro 15) que se distribuyeron desde el filamento (lamela primaria) hasta la lamela (lamela secundaria), esta última fue la más afectada.

Cuadro 15. Frecuencia de alteraciones histopatológicas en branquias de truchas Arcoíris de cultivo de Cajamarca, Perú.

Reacción patrón	w	Score							Alteraciones	
		0	1	2	3	4	5	6	Total	%
<b><u>Disturbios circulatorios</u></b>										
Edema en lamela	1	12	0	2	10	11	0	0	23/35	65,71
<b><u>Cambios regresivos</u></b>										
Degeneración hidrópica en lamelas	1	5	0	7	14	9	0	0	30/35	85,71
Degeneración hidrópica en filamento	1	21	0	3	8	3	0	0	14/35	40
Atrofia (acortamiento) de lamelas	2	2	0	14	10	9	0	0	33/35	94,29
Fusión de lamelas	2	10	0	10	6	6	3	0	25/35	71,43
Necrosis de lamelas	3	14	0	7	12	1	1	0	21/35	60
<b><u>Cambios progresivos</u></b>										
Hipertrofia de epitelio de lamela	1	29	0	2	2	2	0	0	6/35	17,14
Hiperplasia de células mucosas	2	23	0	0	8	2	2	0	12/35	34,29
Hiperplasia de células de filamento	2	9	0	12	8	5	1	0	26/35	74,29
<b><u>Inflamación</u></b>										
Activación de RES	1	29	0	4	0	2	0	0	6/35	17,14
Infiltración de CGE	2	33	0	0	2	0	0	0	2/35	5,71
<b><u>* Presencia de parásitos</u></b>										
<i>Myxosporidio</i>		31	3	1	0	0	0	0	4/35	11,43
<i>Trichodina</i>		33	1	1	0	0	0	0	2/35	5,71

w: Factor de importancia

RES: Sistema retículo-endotelial

CGE: Célula granular eosinofílica

\* Hallazgo no considerado como reacción patrón.

Se observó edema subepitelial en las lamelas en 65,71% de las muestras con estiramiento y desprendimiento del epitelio respiratorio (Figura 17); la fusión de lamelas se observó en 71,43% de las muestras en distintos grados y fue como resultado de la unión de epitelios de lamelas adyacentes y de la hiperplasia de células basales indiferenciadas del filamento (74,29%) (Figura 18).

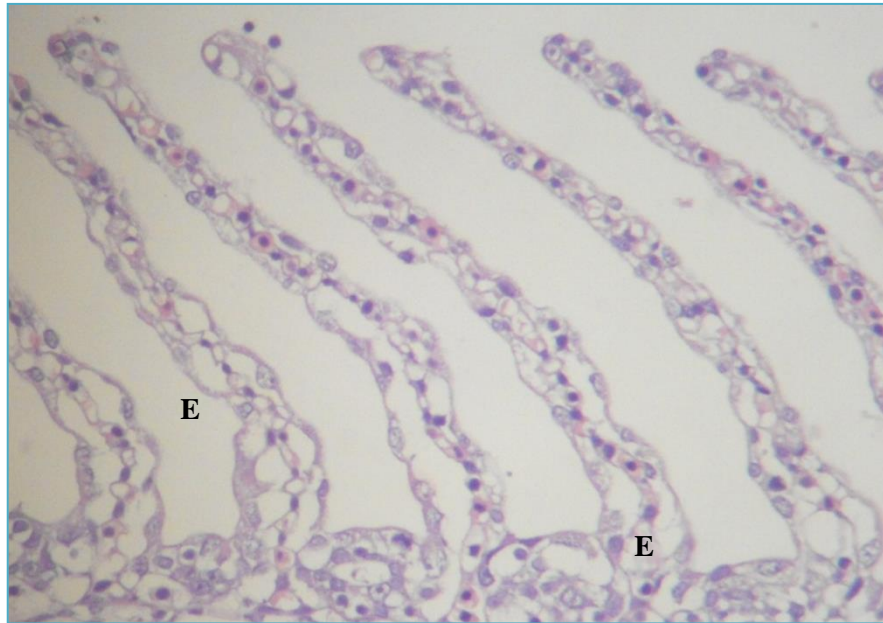


Figura 17. Microfotografía de lamelas de trucha Arcoíris con moderado edema subepitelial. (E) Edema y estiramiento del epitelio en lamelas. H&E 400X.

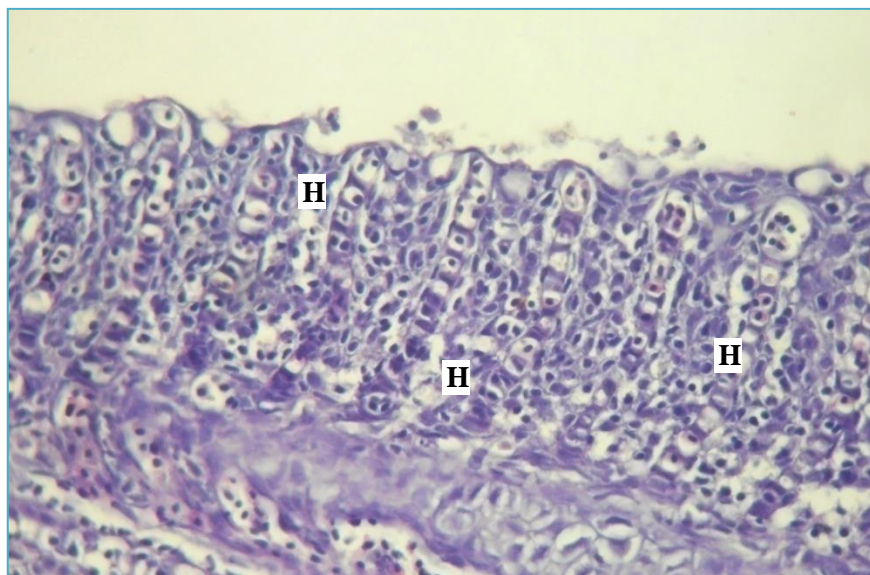


Figura 18. Microfotografía de lamelas de trucha Arcoíris con moderada fusión. (H) Hiperplasia de células basales indiferenciadas del filamento. H&E 400X.

Por otro lado, la atrofia de lamela (94,29%), en los casos más severos, se observó casi sin la presencia de la lamela correspondiente (Figura 19); la degeneración hidrópica tanto en células



del epitelio de lamelas (85,71%) como en las células indiferenciadas del filamento (40%) se observó a nivel citoplasmático (Figura 20).

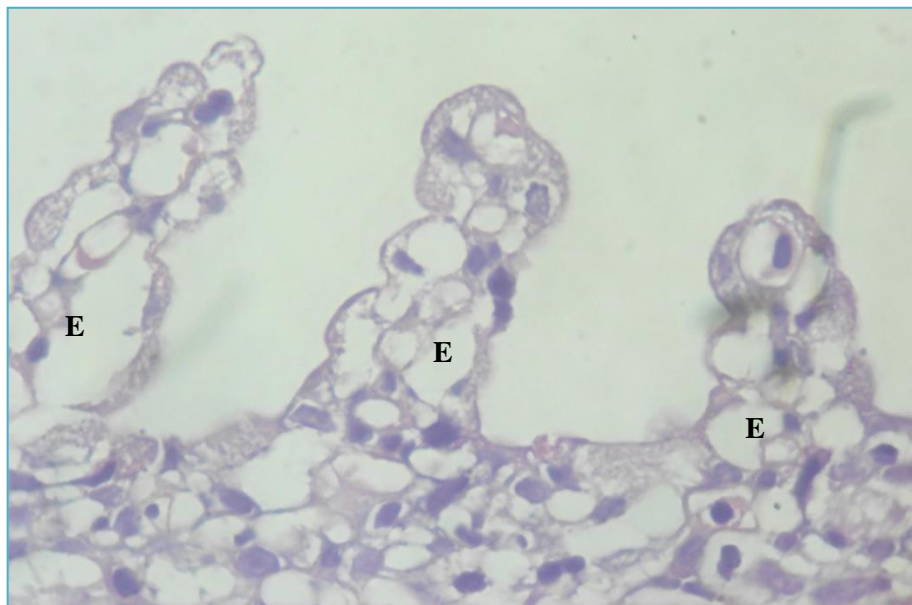


Figura 19. Microfotografía de lamelas de trucha Arcoíris con moderada atrofia. (E) Edema subepitelial. H&E 1000X.

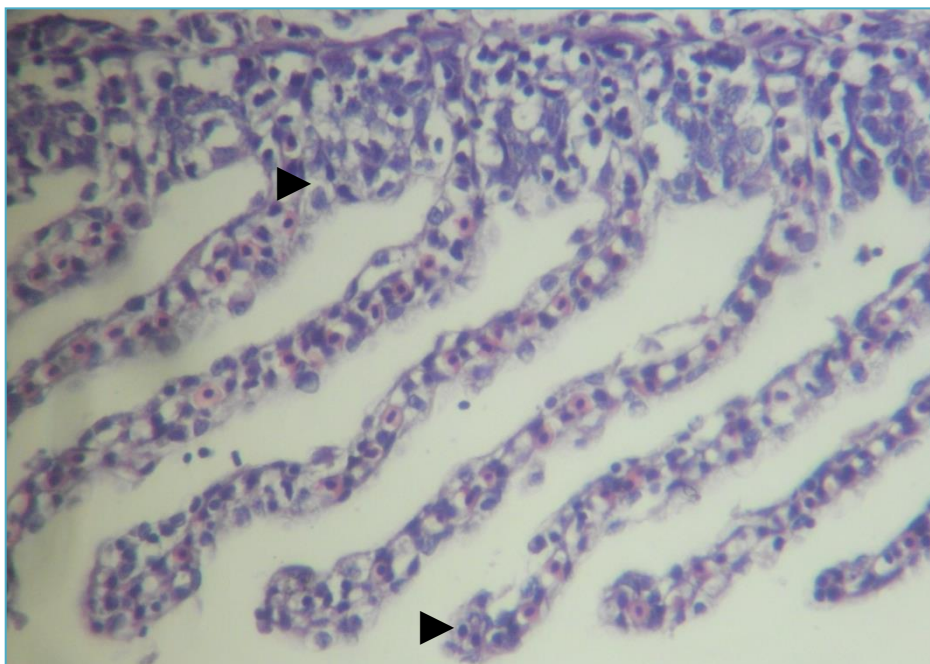


Figura 20. Microfotografía de branquias de trucha Arcoíris con moderada degeneración hidrópica en lamelas y células indiferenciadas basales de filamento (►). H&E 400X.

También se observó la hiperplasia de células mucosas (34,29%) a nivel del ápice del filamento, esto fue visto con la presencia de una gran vacuola intracitoplasmática que desplazaba al núcleo hacia la periferie (Figura 21). La necrosis celular del epitelio en lamelas (Figuras 22 y 23) se observó en 60% de los casos.

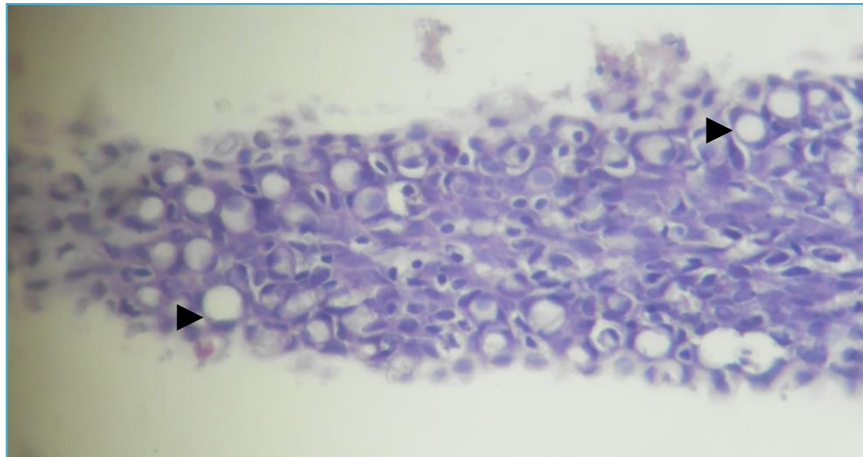


Figura 21. Microfotografía de filamento de trucha Arcoíris con moderada hiperplasia de células mucosas en el ápice. (►) Vacuola intracitoplasmática desplazando al núcleo. H&E 1000X.

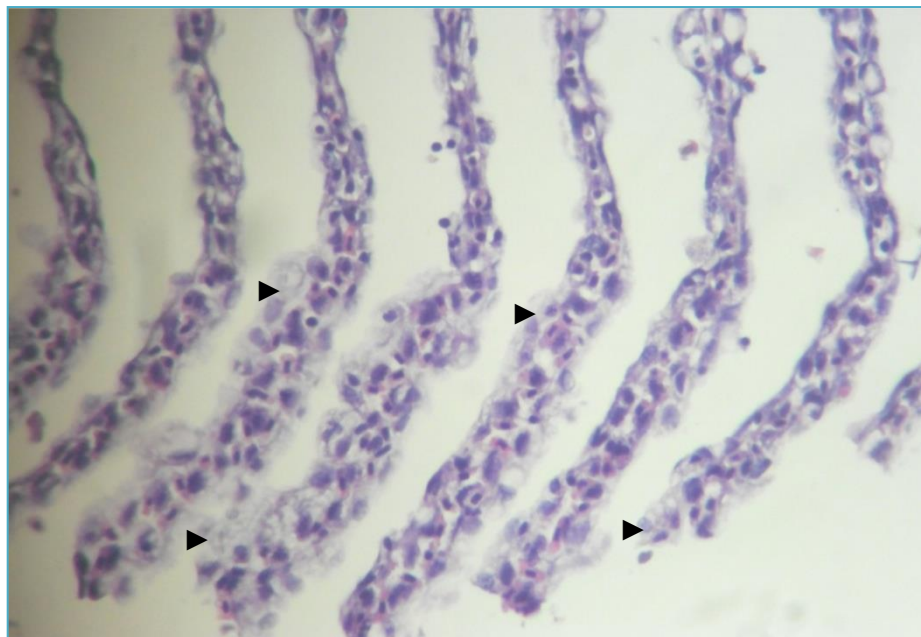


Figura 22. Microfotografía de lamelas de trucha Arcoíris con moderada necrosis epitelial. (►) Células epiteliales de coloración tenue. H&E 400X.

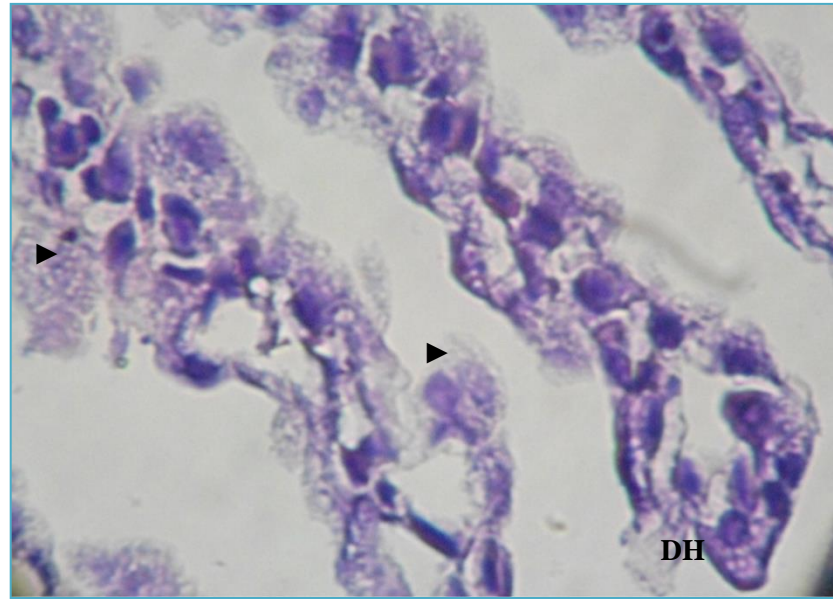


Figura 23. Microfotografía de lamelas de trucha Arcoíris con moderada necrosis de células epiteliales. (►) Necrosis celular. (DH) Degeneración hidrópica. H&E 1000X.

La reacción inflamatoria se observó por la infiltración de leucocitos en el filamento (17,14%) y también por la presencia de células granulares eosinofílicas (CGE), que sólo fueron vistas en algunos de los cortes que mostraron parásitos del filo *Myxosporidio* (Figura 24) y del género *Trichodinaen* lamelas (Figura 25).

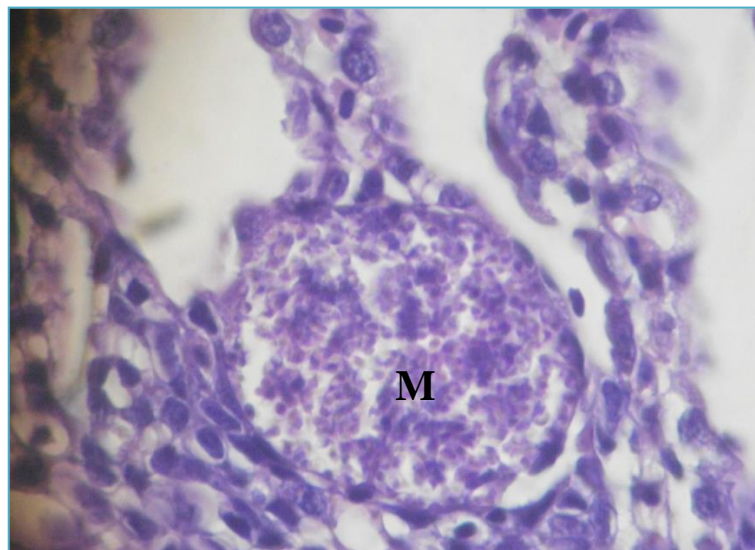


Figura 24. Microfotografía de branquias de trucha Arcoíris con presencia parasítica intracelular. (M) *Myxosporidio* en base de lamela. H&E 1000X.



Figura 25. Microfotografía de branquias de trucha Arcoíris con presencia parasítica extracelular. (T) *Trichodina* sp. entre lamelas. (DH) Degeneración hidrópica. (E) Edema subepitelial. (N) Necrosis. (L) Leucocitos. H&E 1000X.

El Cuadro 16 muestra las lesiones halladas en hígado, se identificaron tres reacciones patrón de entre las cuales, los cambios regresivos fueron los que predominaron.

Cuadro 16. Frecuencia de alteraciones histopatológicas en hígado de truchas Arcoíris de cultivo de Cajamarca, Perú.

Reacción patrón	w	Score								Alteraciones	
		0	1	2	3	4	5	6	Total	%	
<b><u>Disturbios circulatorios</u></b>											
Dilatación de sinusoides	1	29	0	2	3	1	0	0	6/35	17.14	
<b><u>Cambios regresivos</u></b>											
Degeneración hidrópica	1	0	0	1	6	22	6	0	35/35	100	
Degeneración grasa II	1	25	0	5	1	4	0	0	10/35	28.57	
Degeneración grasa III	2	29	0	1	3	2	0	0	6/35	17.14	
Degeneración grasa IV	3	31	0	1	1	2	1	0	5/35	14.29	
Cariopcnosis	2	5	0	10	15	4	1	0	30/35	85.71	
Nucléolo prominente	2	7	0	8	7	10	3	0	28/35	80	
Múltiples nucleolos	2	12	0	9	12	2	0	0	23/35	65.71	
Necrosis	3	19	0	9	4	2	1	0	16/35	45.71	
<b><u>Inflamación</u></b>											
Activación de RES	1	28	0	4	3	0	0	0	7/35	20	

w: Factor de importancia

RES: Sistema retículo-endotelial.



La alteración más importante en hígado fue la degeneración hidrópica (Figura 26) que se presentó en el 100% de las muestras y en distintos grados; por otro lado la degeneración grasa, identificada de acuerdo al Cuadro 9, también se observó en mayor porcentaje para el grado II (28,57%), seguido por el grado III (17,14%) y por el grado IV (14,29%) (Figuras 27). Ambos tipos de degeneración, hidrópica y grasa, se presentaron simultáneamente en algunas muestras.

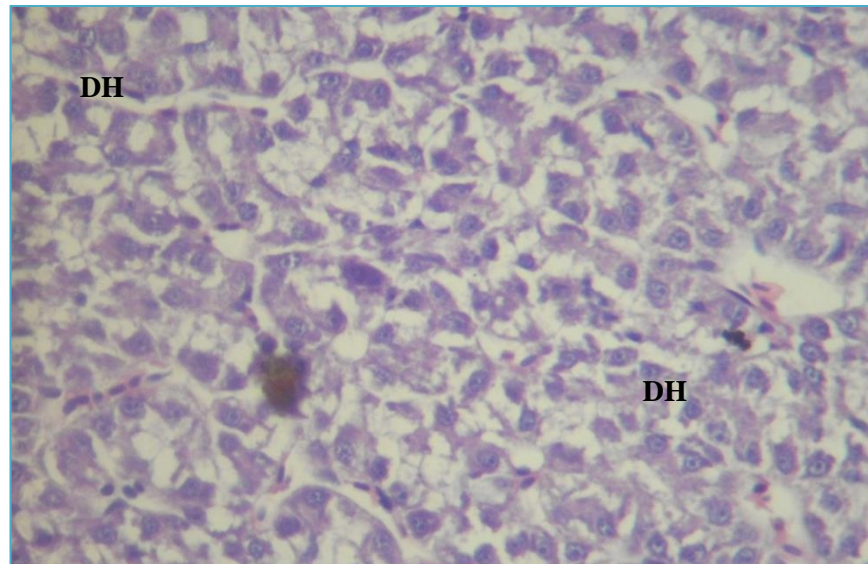


Figura 26. Microfotografía de hígado de trucha Arcoíris con moderada degeneración hidrópica. (DH) Degeneración hidrópica en citoplasma. H&E 400X.

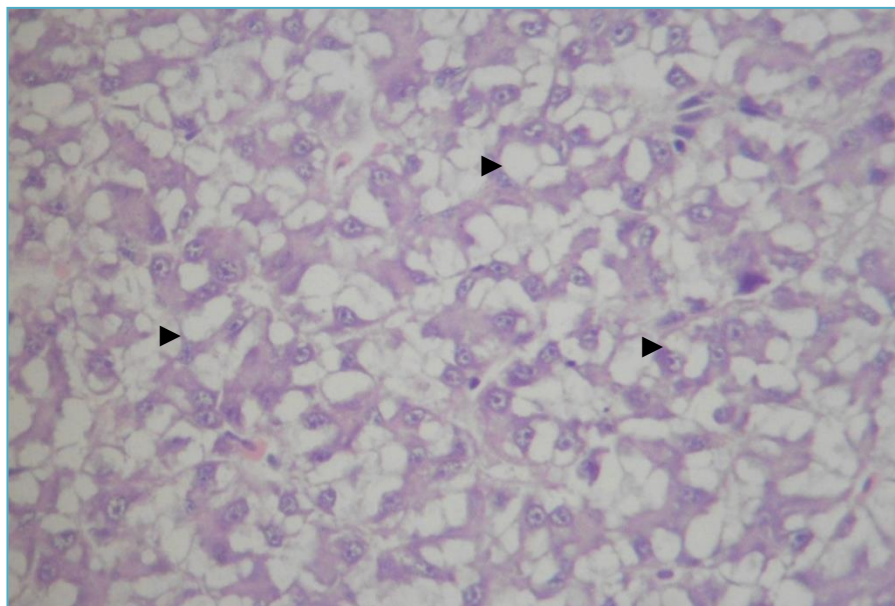


Figura 27. Microfotografía de hígado de trucha Arcoíris con moderada degeneración grasa grado IV. Las vacuolas (►) desplazan al núcleo hacia la periferie. H&E 400X.

Los hepatocitos, en su mayoría (85,71%), se hallaron alterados en el núcleo por una picnosis incrementada, mostrando además la presencia de nucleolos prominentes (80%) y múltiples (65,71%) en varias muestras (Figuras 28 y 29).

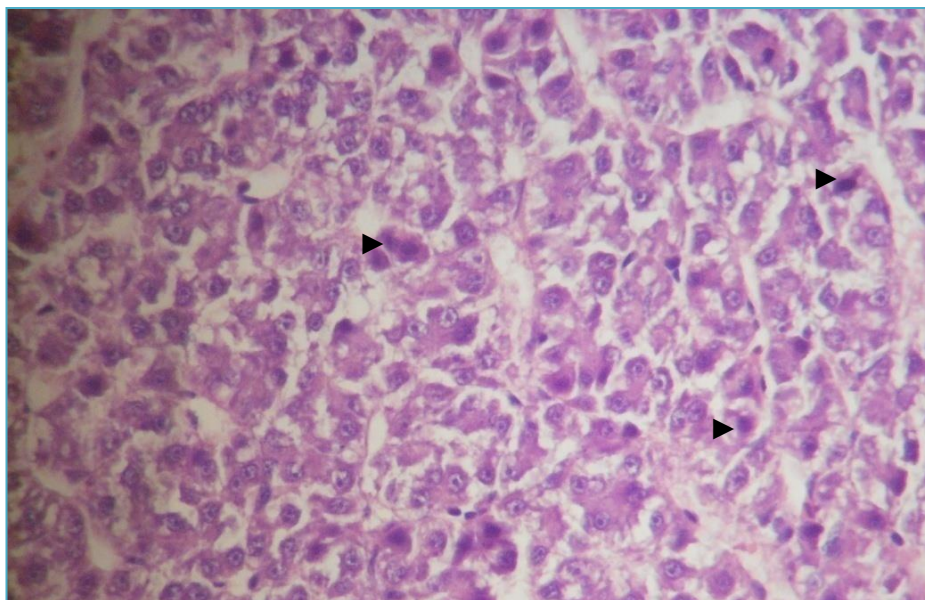


Figura 28. Microfotografía de hígado de trucha Arcoíris con moderada cariopcnosis en hepatocitos (►). H&E 400X.

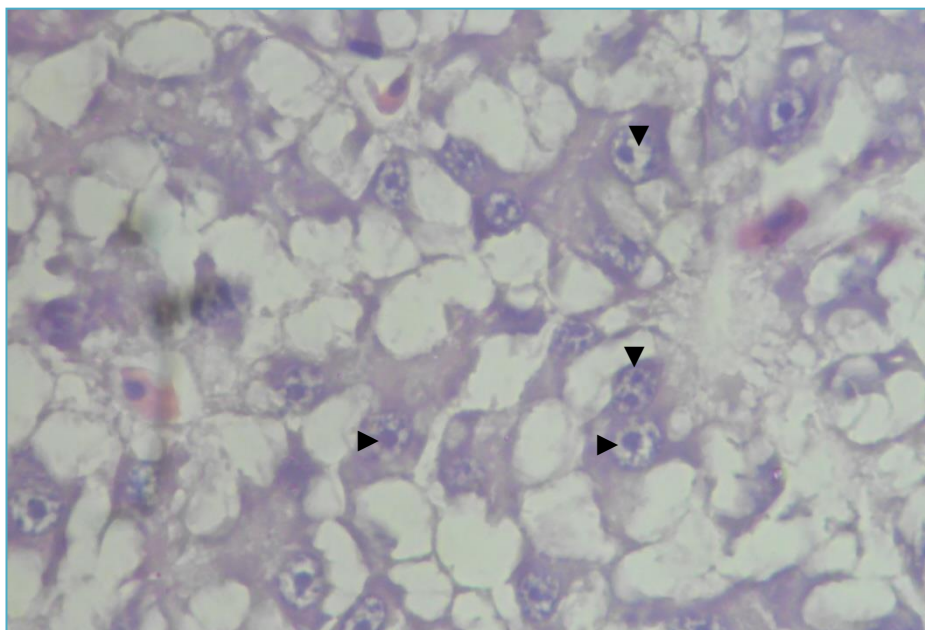


Figura 29. Microfotografía de hígado de trucha Arcoíris con alteraciones nucleares en hepatocitos. (►) Nucleolos prominentes y (▼) nucleolos múltiples. H&E 1000X.

La necrosis hepática (45,71%) se observó en células con un citoplasma homogéneo y ligeramente eosinofílico (Figura 30). La infiltración de leucocitos en el parénquima fue visto en el 20% de los casos, y la dilatación de los sinusoides estuvo presente en 17,14% de las muestras.

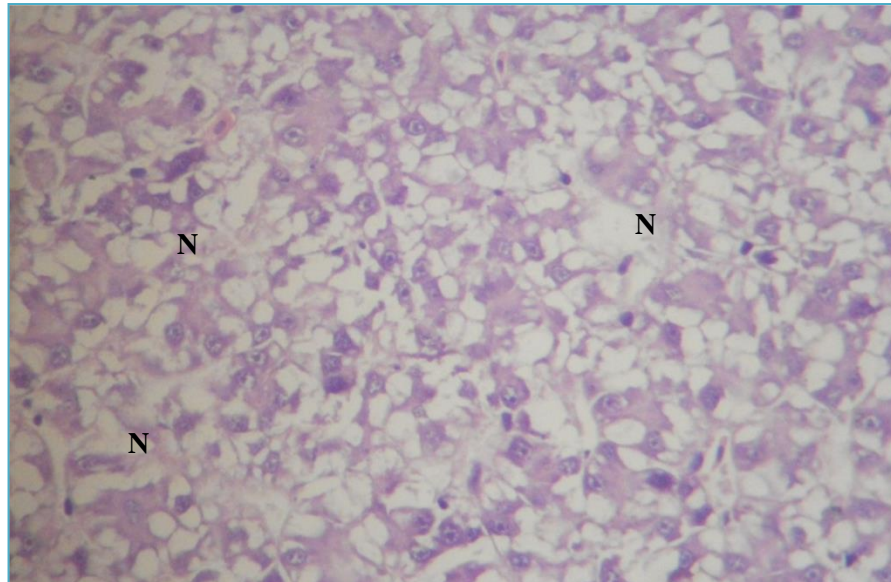


Figura 30. Microfotografía de hígado de trucha Arcoíris con moderada necrosis celular (N) con pérdida del detalle celular y degeneración grasa grado IV. H&E 400X.

El músculo estriado esquelético fue uno de los tejidos más afectados por la degeneración y edema, como se puede observar en el Cuadro 17.

Cuadro 17. Frecuencia de alteraciones histopatológicas en músculo estriado esquelético de truchas Arcoíris de cultivo de Cajamarca, Perú.

Reacción patrón	w	Score								Alteraciones	
		0	1	2	3	4	5	6	Total	%	
<b><u>Disturbios circulatorios</u></b>											
Edema	1	3	0	14	8	10	0	0	32/35	91,43	
<b><u>Cambios regresivos</u></b>											
Degeneración granular	3	1	0	13	15	6	0	0	34/35	97,14	
Degeneración hialina	3	9	0	15	11	0	0	0	26/35	74,29	
Picnosis de fibra muscular	1	23	0	8	3	1	0	0	12/35	34,29	
<b><u>Inflamación</u></b>											
Activación de RES	1	30	0	1	4	0	0	0	5/35	14,29	

w: Factor de importancia

RES: Sistema retículo-endotelial.



El edema en tejido muscular (94,29%), se caracterizó por el aumento del espacio comprendido entre la membrana del endomisio y el sarcolema (Figura 31), apreciándose además dentro de este espacio estructuras granulares muy pequeñas eosinofílicas que se corresponden con la degeneración granular o necrosis licuefactiva (97,14%) de la fibra muscular, afectando gran parte de la misma en diferentes regiones de la fibra (Figura 32).

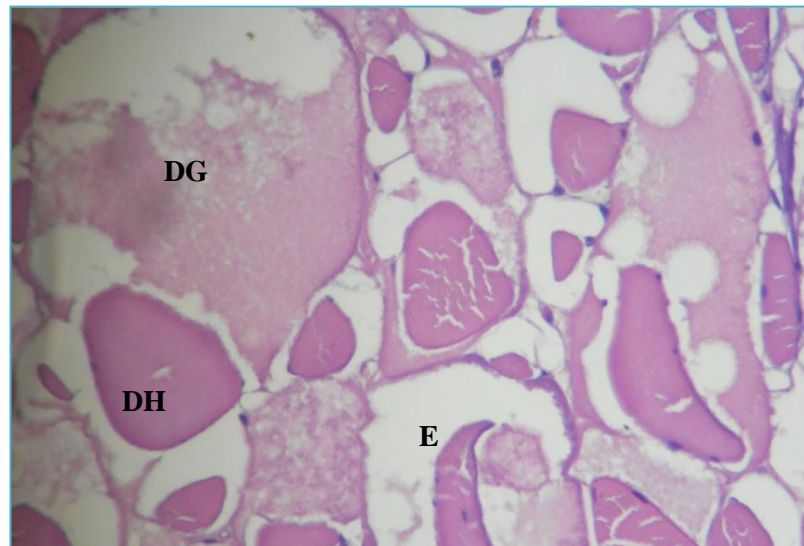


Figura 31. Microfotografía (corte transversal) de músculo estriado esquelético de trucha Arcoíris con moderada degeneración granular (necrosis licuefactiva) (DG). (E) Edema intramuscular. (DH) degeneración hialina (necrosis coagulativa). H&E 400X.

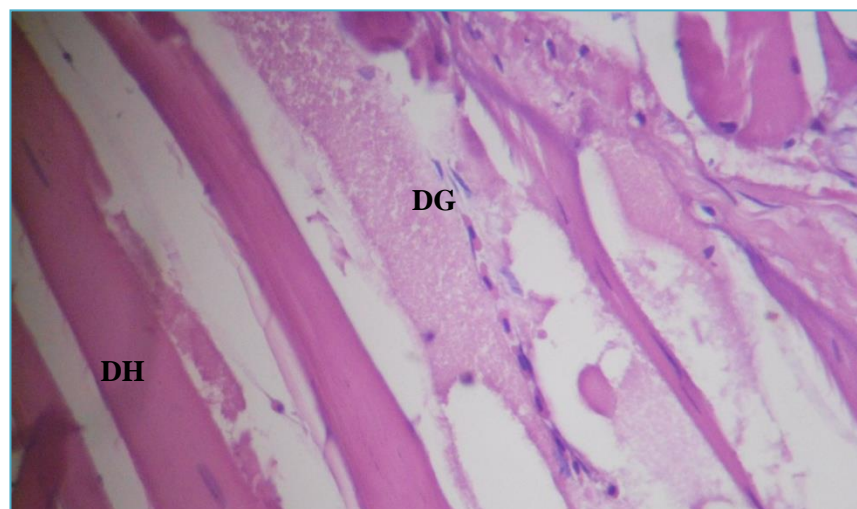


Figura 32. Microfotografía (corte longitudinal) de músculo estriado esquelético de trucha Arcoíris con moderada degeneración granular (DG) y degeneración hialina (DH). H&E 400X.



Otro tipo de degeneración identificada fue la de tipo hialina (74,29%) también conocida como necrosis coagulativa, ésta se caracterizó por la pérdida de las estriaciones en distintas regiones de la fibra muscular y, en su lugar, se observó un contenido más compacto en el sarcoplasma (Figura 31 y 32). La picnosis muscular estuvo presente en 34,29% de las muestras y la infiltración de células inflamatorias fue posible en los casos más severos de degeneración granular.

En el Cuadro 18, los índices obtenidos en cada tejido se presentan en intervalos de frecuencia para cada tejido; así en branquias hubo un máximo de 10 muestras con índices en el intervalo 11-20; en hígado fue similar a las branquias pero también se observó 10 muestras en el intervalo 31-40; y en músculo estriado esquelético hubo 14 muestras en el intervalo 21-30. Asimismo, se muestra los valores para la mediana, moda y promedio aritmético con desviación estándar de los índices para cada tejido evaluado.

Cuadro 18. Frecuencia de índices de las alteraciones histopatológicas en tejido de trucha Arcoíris de cultivo de Cajamarca, Perú.

Intervalo de frecuencia de índices	Frecuencia en tejido		
	Branquias	Hígado	Músculo estriado
0 – 10	2	3	9
11 – 20	10	10	10
21 – 30	8	9	14
31 – 40	8	10	2
41 – 50	5	2	0
51 – 60	1	1	0
61 – 70	1	0	0
Mediana	23	23	19
Moda	21	20	8
Promedio aritmético	28,77	25,77	18,29
Desviación estándar	13,5	12,42	7,73

En el gráfico de la Figura 33 se muestran de manera didáctica los intervalos del Cuadro 18. La Figura 34 nos muestra un gráfico de barras con el promedio de los índices obtenidos, por la extensión de cada cambio histopatológico observado, en cada tejido. El promedio del índice en branquias (28,77) se encontró superior al del hígado (25,77) y músculo estriado esquelético (18,29), las desviaciones estándar fueron 13,5, 12,42 y 7,73 para cada tejido, respectivamente. La diferencia de los índices es debido más a la cantidad de cambios histopatológicos observados en los tejidos.

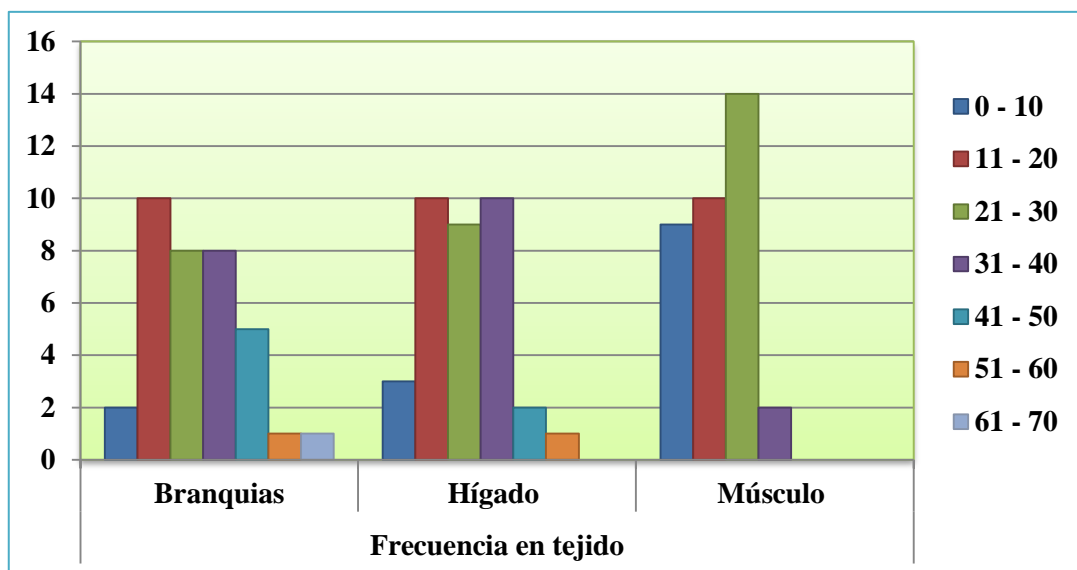


Figura 33. Gráfico de la frecuencia de índices de las alteraciones histopatológicas en tejido detrucha Arcoíris de cultivo de Cajamarca, Perú.

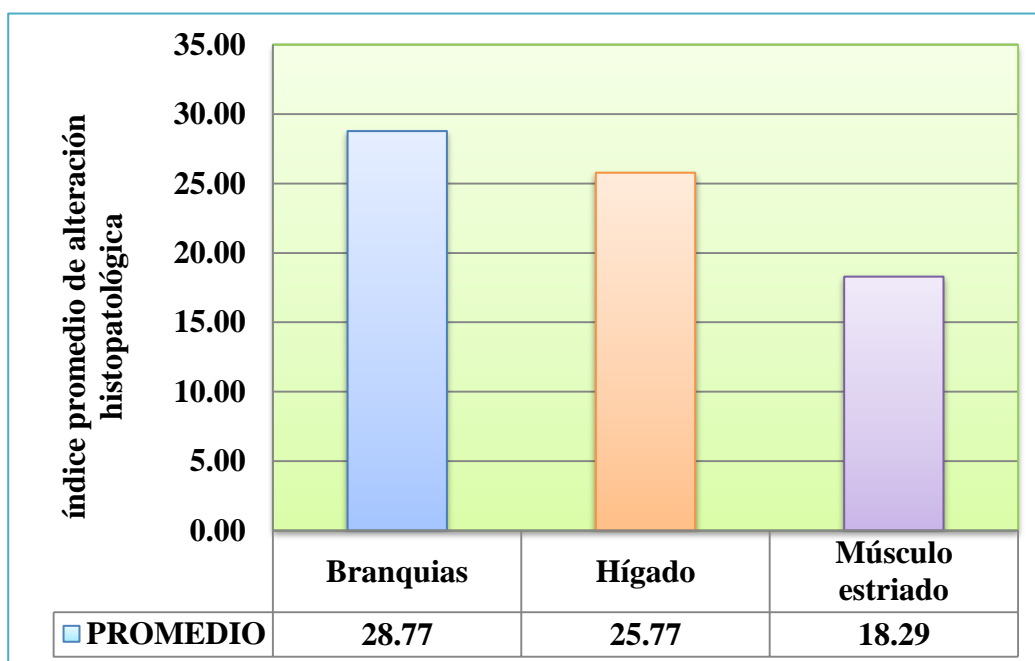


Figura 34. Gráfico del índice promedio de la extensión de las alteraciones histopatológicas por tejido en trucha Arcoíris de cultivo de Cajamarca, Perú.

## V. DISCUSIÓN

En el Perú las investigaciones sobre la histopatología por bioacumulación de metales pesados en peces de importancia económica, como la trucha Arcoíris de cultivo, no se han reportado o no se han realizado. Sumado a ello, la legislación peruana no cuenta con niveles de referencia de metales pesados u otros xenobióticos en la biota acuática y sedimento en ambientes naturales.

Todos los componentes bióticos y abióticos de un ecosistema acuático pueden intervenir y favorecer, de acuerdo a ciertos factores, la bioacumulación de metales pesados en muchos organismos a niveles muy altos y tóxicos. Se sabe que a través del incremento en concentración de metales pesados en organismos de niveles tróficos inferiores (Russell *et al.*, 2008), la biomagnificación de algunos metales puede llegar a afectar la salud humana.

Algunos estudios, de ámbito nacional, han encontrado concentración de metales pesados en peces de consumo humano y en otras especies ícticas de la Amazonia Peruana (Pezo *et al.*, 1992), en recursos como el Carachi (*Orestias sp.*) y totora (*Schoenoplectus tatora*) del lago Titicaca (Calcina, 2006), y en plantas nativas (Aliaga *et al.*, 2009).

El presente trabajo escogió la trucha Arcoíris por dos razones principales, la primera, ser una especie con creciente demanda para el consumo humano del mercado interno y externo (PRODUCE, 2010b); y segundo, por ser considerado como una de las mejores especies bioindicadoras por responder con gran sensibilidad a cambios en su medio ambiente acuático (Mondon *et al.*, 2001; Iroká y Drastichová, 2004).

### 5.1. Concentración de metales pesados en agua y sedimento

Durante el mes de diciembre de 2011 todos los valores de concentración de metales y parámetros físico-químicos en agua (Cuadro 11 y 12) se mantuvieron dentro de los LMP del ECA (MINAM, 2008) para ambas estaciones de muestreo. En febrero de 2012, se observaron similares valores, todos disminuyeron, a excepción del Cr que aumentó de 3,3 a 4 µg/L en la estación de impacto, por ello podemos sugerir que el pH pudo ser alcalino ya que este metal es más móvil en esa condición de acuerdo a Galán y Romero (2008).

La disminución en concentración en agua, de casi todos los metales, se puede atribuir a la bioacumulación (Dallinger y Kautzky, 1985; Canli *et al.*, 1998) y sedimentación (Altindag y Yigit, 2005; Saeed y Shaker, 2008; Harikumar *et al.*, 2009), producto de las transformaciones químicas en el ambiente que sufren estas sustancias debido a que no son degradables (Baird, 2001); además, podemos sugerir que el incremento del agua en la laguna diluyó más los metales presentes por la temporada de lluvias que va de diciembre a marzo en esa región.

Es necesario mencionar que la concentración de Cr analizada en las dos ocasiones fue el Cr total y el LMP para Cr es de acuerdo a la especie de Cr, Cr(+3) y Cr(+6), en CEQGs (1999) y ECA (MINAM, 2008). Por ello, los valores obtenidos en este estudio se compararon con la suma de los LMP para ambas especies de Cr, resultando en una concentración aceptable en agua; sin embargo, si asumimos que la mayor parte del Cr detectado en agua fue el Cr(+6), debido a que no es fuertemente adsorbido por el sedimento o materia particulada y siendo esta especie estable en aguas aeróbicas de acuerdo a Facetti *et al.* (1998) y *Environment Canada* (1998), entonces podemos sugerir que el Cr(+6) fue la que predominó más en el medio acuático y fue biodisponible con valores en diciembre (3,3 µg/L) y febrero (4 µg/L) y por ello pudieron haber superado el LMP de CEQGs (1999) de 1 µg/L.

El sedimento tiene una participación importante como fuente liberadora de metales hacia la columna de agua y su análisis permite detectar la contaminación que se ocultó al análisis del agua. En diciembre de 2012 (Cuadro 10) se encontró concentraciones (mg/kg) en As=38,94, Cd=1,21 y Hg=0,79, los cuales estuvieron por encima del LMP de CEQGs (1999), representando un aumento de 660% para As, 201,17% para Cd y 466,06% para Hg.

La legislación peruana no posee una guía de LMP de metales para sedimento, y frente a estos resultados se hace muy necesario evaluar otros cuerpos de agua expuestos a la contaminación y establecer LMP que permitan proteger el ecosistema, puesto que los valores encontrados de As, Cd y Hg nos indican que el sedimento está altamente contaminado, siendo las especies bentónicas las más expuestas, seguido por las especies no bentónicas por el contacto

continuo con el sedimento y debido a la movilidad que tienen los metales en el agua por los cambios de pH, potencial redox, oxígeno disuelto y presencia de quelatos orgánicos (Förstner *et al.*, 1993; Altindag y Yigit, 2005; Harikumar *et al.*, 2009).

Los resultados obtenidos en el presente estudio nos permite sugerir que el pH (6,93) del agua de la estación de impacto condujo, en cierta medida, a la liberación de metales desde el sedimento hacia la columna de agua, así todos los metales variaron su concentración. Otros factores que pueden afectar la liberación de metales desde el sedimento son la alta temperatura y el proceso de fermentación que resulta de la descomposición de la materia orgánica (Elewa *et al.*, 2001).

Todos estos factores antes mencionados, intervienen sólo para hacer cambios en la especiación química de los metales pesados, pues ellos permanecen en el tiempo, y estando disueltos en el agua son biodisponibles para los organismos acuáticos hasta que el proceso contrario ocurra, es decir cuando los metales sedimentan, que es cuando se incrementa el pH y la cantidad de materia orgánica, donde los metales se adsorben (Thanabalasingam y Pickering, 1986).

Las características propias del sedimento también son muy importantes, por ejemplo, muestras de sedimento tomadas en puntos muy próximos, pueden presentar contenidos en metales muy diferentes, siendo la textura del sedimento la principal responsable de las discrepancias (Zöllmer e Irion, 1993; Usero *et al.*, 1997).

Lo anterior se observó en el presente estudio, la estación de impacto presentó mayor contenido de materia orgánica (36,08%) y sulfuros (378,6 mg/kg), y mayor porcentaje de granulometría con respecto a la estación de referencia (34,73%, 365 mg/kg) (Anexo 3). Estas características del sedimento ayudaron a que retenga mayor cantidad de metales pesados en la estación de impacto.

Los contenidos hallados en materia orgánica, sulfuros y porcentaje de granulometría en sedimento y las propiedades particulares del As, Cd y Hg produjo el elevado incremento en este compartimento. Dentro de las propiedades de cada metal, se pueden mencionar por ejemplo que el As es retenido por material coloidal húmico bajo condiciones de alto contenido orgánico (carga negativa), bajo pH, fósforo y contenido mineral (Thanabalasingam y Pickering, 1986); similarmente el Cd tiene una alta afinidad por las partículas cargadas negativamente y tiende a ser removido de la solución para acumularse en el fondo del sedimento (CCME, 1996); y en el caso del Hg, es generalmente encontrado en sedimento en asociación con materia orgánica y

sulfuros (Suzuki *et al.*, 1991), siendo con este último en gran medida no disponible para los organismos (Eisler, 1987).

Por los resultados encontrados en el sedimento podemos sugerir que este compartimento acuático representa un peligro latente, tanto para los peces de cultivo como para todo el ecosistema debido a la exposición incrementada y continua a fuentes antropogénicas contaminantes. Por ello y de acuerdo con Dallinger y Kautzky (1985), los bajos contenidos de metales en agua comparados con las elevadas concentraciones en sedimento, indican una cronicidad en vez de una aguda contaminación.

## **5.2. Bioacumulación de metales pesados**

El Zn y Ba se hallaron en cantidades altas en los tres tejidos analizados (Cuadro 13). Mientras el Cd, Cr, Cu y Pb tuvieron valores por debajo de los LMP de ITP (2002) (Anexo 5) y de EU (2006), CFIA (2011) y de la legislación brasileña (citado en MINECO, 2011).

En branquias, se halló el siguiente orden de concentración (mg/kg): Zn>Ba>Cu>Cr>Pb; mientras en hígado y músculo estriado esquelético fue (mg/kg): Zn>Ba>Cu>Cr>Pb>Cd. De entre estos metales, para el Ba no existen LMP en alimentos y para el caso del Zn está la Regulación de bebida y alimentos de Australia (*Western Australian Food and Drink Regulations*) que recomienda un LMP de 40 mg/kg (Marks *et al.*, 1980). Además, el Zn cuenta con valores de referencia en las TPC (MINSA, 2009) y existe un nivel de ingesta máximo tolerable (*tolerable upper intake level* UL) para el hombre adulto promedio, dado por NAS (2001) y EFSA (2006). El UL, en este contexto connota que es tolerable fisiológicamente y es un criterio científico determinado por la evaluación de riesgo, es decir, la probabilidad de ocurrencia de un efecto adverso en algún nivel específico de exposición (EFSA, 2006).

El FBA indica que cuanto mayor es su valor numérico, mayor es el potencial de daño y por lo tanto se hace necesaria una acción. Estudios en Canadá, sobre los modelos de evaluación de FBA realizados, estimaron que probablemente existan errores Tipo II, es decir falso negativo (Arnot y Gobas, 2006). Por ello, los resultados comparados con el score FBA (Cuadro 14) deberán ser considerados como antecedentes para una posterior evaluación más exhaustiva.

### **5.2.1. Bario**

La concentración de Ba en los tres órganos analizados (Cuadro 13) es importante por el papel tóxico que pueda estar ejerciendo este metal en el pez. La cantidad hallada en músculo estriado esquelético (15,57 mg/kg) dista mucho del valor publicado por Gormican (1970) en

salmones (menor a 0,2 mg/kg); entretanto *Health Canada* (2005) reportó valores mucho menores, 137,28 partes por billón, en pescados de consumo humano.

Los valores en branquias e hígado son menores que en músculo (6,195 y 3,42 mg/kg, respectivamente) y la mayor cantidad en branquias que en hígado nos puede sugerir que el ingreso se puede realizar por este órgano, puesto que la solubilidad en el agua de los compuestos de Ba aumenta con la disminución del pH (CICAD, 2001).

La CICAD (2001) y ATSDR (2007) atribuyen la toxicidad del Ba a los iones  $Ba^{+2}$ , los cuales pueden ser absorbidos fácilmente por la mucosa intestinal de los mamíferos por la alta permeabilidad a estos iones (CCME, 2013). El consumo de pescado con altas concentraciones de Ba puede ocasionar que se acumule este metal en los huesos, como indicaron los estudios en ratas utilizando una sal soluble (cloruro de Ba) que se distribuyó a través de la sangre y se depositó principalmente en el esqueleto y en menor proporción en tejidos blandos (CICAD, 2001).

El mecanismo de toxicidad del Ba está relacionado con su capacidad para sustituir al Ca en la estimulación del músculo liso del tracto gastrointestinal, músculo cardíaco y músculos voluntarios, lo que resulta en la parálisis (DiBello *et al.*, 1991). La toxicidad también puede resultar del antagonismo fisiológico a los iones de potasio, por su radio iónico similar (CCME, 2013), produciendo hipopotasemia por el bloqueo de los canales de potasio (Koch *et al.*, 2003). En mamíferos, la intoxicación aguda por Ba puede incluir salivación excesiva, vómitos, cólicos, diarrea violenta, temblores, parálisis muscular, severa cardiotoxicidad y parálisis del sistema nervioso central (Venugopal y Luckey, 1978), dependiendo de la dosis y la solubilidad de la sal de Ba, puede ocurrir la muerte en pocas horas o días (Stockinger, 1981).

Hay información de que el Ba se bioconcentra en ciertas plantas y organismos acuáticos (Aruguete *et al.*, 1998; WHO, 2001), pero también se tiene muy poca información disponible sobre los efectos del Ba en los organismos acuáticos, por ejemplo, en un estudio de 21 días, hubo deterioro en la reproducción y reducción en el crecimiento de dafnias con una dosis de 5.8 mg/L (CICAD, 2001).

La ATSDR (2007), recomienda realizar estudios sobre la bioconcentración de Ba por las plantas y los animales terrestres, y sobre la biomagnificación del Ba en la cadena alimenticia terrestre y acuática para poder caracterizar mejor el destino ambiental de este elemento y definir la importancia de su acumulación en la cadena alimentaria como fuente de exposición humana.

### 5.2.2. Cobre

La mayor cantidad de Cu se halló en el hígado (Cuadro 13), esto puede ser debido a la habilidad de este órgano para retener Cu y almacenarlo unido a la MT (ATSDR, 1990; Eisler, 1998); sin embargo, tanto el Zn como el Ba obtuvieron valores mayores que el Cu en este tejido.

Se sabe que el Zn también se une a la MT, pero tiene poca estabilidad debido a que la MT exhibe mayor afinidad por el Cu, el cual es más tóxico (Roch *et al.*, 1982, Farombi *et al.*, 2007). Por ello, se puede sugerir que el Zn no se hallaba necesariamente unido a la MT, y junto con el Ba se pudieron haber unido al tejido graso presente en este órgano, ya que existe una afinidad entre los metales pesados y este tipo de tejido, de acuerdo a Saleh (1982) y Authman y Abbas (2007); además, siendo el hígado un importante centro detoxificante del organismo es clara su participación contra estas sustancias tóxicas.

### 5.2.3. Cromo

Los valores en branquias (0,009 mg/kg), hígado (0,16 mg/kg) y músculo estriado esquelético (0,05 mg/kg) fueron menores que el LMP de 0,2 mg/kg de ITP (2002); sin embargo, una investigación de Goodale *et al.* (2008) en la línea celular de medaka (*Oryzias latipes*), encontraron una alta citotoxicidad, así como también visualizaron la fragmentación de la doble cadena de ADN a concentraciones tan bajas de Cr (1  $\mu$ M o 0,162 mg/kg de  $\text{Na}_2\text{CrO}_4$ ). Por ello, se puede considerar la participación tóxica del Cr en estos tejidos a pesar de su baja concentración.

El Cr (+6) en agua existe como parte de un complejo aniónico y es más tóxico que Cr(+3) debido a su alto potencial de oxidación y a la facilidad de penetrar las membranas biológicas (Steven *et al.*, 1976; Langard y Norseth, 1979; *Ecological Analysts*, 1981). La especie de Cr que probablemente se encuentra en estos tejidos es el  $\text{Cr}^{3+}$  unido a moléculas orgánicas (Langard y Norseth, 1979).

En el presente estudio, el músculo estriado esquelético fue el tejido con mayor cantidad de Cr, esto difiere con los resultados de Fatima y Usmani (2013), donde fueron más afectadas las branquias. Esta diferencia se puede atribuir al cambio de pH; Van der Putte *et al.* (1981a) mencionó en un estudio que la concentración en branquias fue mayor a pH 7,8 que a 6,5.

### 5.2.4. Zinc

La toxicosis por Zn afecta a los peces de agua dulce por la destrucción del epitelio branquial y la consecuente hipoxia tisular (Eisler, 1993). Los valores de Zn hallados en



branquias (Cuadro 13) fueron similares a los reportados en tilapia de panza roja y lisa por Authman y Abbas (2007) y por Poleksic *et al.* (2010) en el esturión del Danubio.

En el Perú, lasTPC (MINSA, 2009), indican que en 100 g de trucha rosada (parte comestible) hay 0,66 mg de Zn, valor por debajo de los 2,12 mg/100 mg de músculo hallados en este estudio. Sin embargo, si consideramos los hábitos alimenticios de cada persona o grupo poblacional, la exposición a través de la dieta con estos valores de Zn pueden acercarse al UL de 25 mg/día (EFSA, 2006) o al de 40 mg/día (NAS, 2001) en los casos mas extremos de alta ingesta de carne de pescado.

El exceso de Zn genera una amplia variedad de trastornos de tipo neurológico, hematológico, inmunológico, renal, hepático, cardiovascular, del desarrollo, y efectos genotóxicos en las personas más sensibles (ATSDR,2005).

### **5.3. Histopatología**

Las lesiones en tejidos por metales pesados son descritas como reacciones celulares básicas e incluyen trastornos circulatorios, degenerativos, hipertrofia, hiperplasia y necrosis en diferentes especies de peces (Daoust *et al.*, 1984; Authman y Abbas, 2007; Figueiredo-Fernandes *et al.*, 2007; Poleksic *et al.*, 2010; Patnaik *et al.*, 2011; Fatima y Usmani, 2013).

#### **5.3.1. Branquias**

Las branquias son el órgano respiratorio de los peces y son frecuentemente el blanco en procesos infecciosos y no infecciosos. Este órgano es estructuralmente complejo y está compuesto por un mosaico variable de tipos celulares inducibles. La capa epitelial, en particular, es remarcablemente metaplásica en respuesta a agresores ambientales y fisiológicos, así como durante la enfermedad (Ferguson, 2006).

La conformación y arquitectura celular en las branquias se mantuvieron conservadas en la mayoría de los casos. Los principales cambios encontrados (Cuadro 15) estuvieron a nivel de lamelas y la mayoría de ellos fueron de grado leve a moderado, afectando parcialmente la extensión de la muestra.

El cambio patológico más notorio, en casi todas las muestras, fue el edema subepitelial; esta alteración provocó el estiramiento y separación del epitelio de las células pilar. El edema ha sido visto a exposición natural por Authman y Abbas (2007) en tilapia panza roja (*Tilapia zillii*) y lisa (*Mugil cephalus*) y por Poleksic *et al.* (2010) en esturión del Danubio (*Acipenser ruthenus*), y a exposición controlada de Cu por Figueiredo-Fernandes *et al.* (2007) en tilapia del

Nilo (*Oreochromis niloticus*); pero también es una lesión vista por productos como endosulfan (Nowak, 1992) y sustancias como el formol buferado que se emplea en la preservación de muestras (Ferguson, 2006). Este cambio del epitelio respiratorio no permite un adecuado intercambio iónico, y es considerado como un mecanismo de defensa (Van Heerden *et al.*, 2004) que reduce el área de contacto de las branquias con el medio externo.

Otro cambio muy frecuente fue la fusión de lamelas. Esta reduce el área superficial para la respiración, beneficiando a los peces en la reducción de los receptores disponibles para patógenos o toxinas (Ferguson, 2006). Por lo anterior, puede ser considerado también como un mecanismo de defensa frente a los metales pesados, especialmente al Cu, como lo demostró Daoust *et al.* (1984) a exposición controlada a sulfato de Cu (0,135 mg/L) en trucha Arcoíris.

En el presente estudio, la fusión de lamelas se observó mayormente de manera parcial y en algunos casos fue completa en toda la extensión de la lamela, esta lesión fue en gran parte como resultado de la hiperplasia de las células basales indiferenciadas del filamento y en menor proporción debido a una simple aposición de lamelas adyacentes, estos resultados están de acuerdo con los obtenidos por Poleksic *et al.* (2010), Rajeshkumar y Munuswamy (2011) a exposición natural en el pez de leche (*Chanos chanos*), Roberts y Oris (2004) a exposición de 10 mg/L de Cr(+6) en trucha Arcoíris, y por Figueiredo-Fernandes *et al.* (2007) a concentraciones altas (2,5 mg/L) de CuSO<sub>4</sub>, estos dos últimos estudios no consideraron la cantidad de metal bioacumulado en branquias.

Junto a las anteriores lesiones se presentó la atrofia de lamela vista como un acortamiento de la misma, la cual en los casos más severos se observó con la reducción de casi el 100% de la lamela, de acuerdo a Rajeshkumar y Munuswamy (2011). Este cambio puede interpretarse como un proceso de reparación posterior a un grave daño en la integridad de la lamela. El proceso de reparación del epitelio respiratorio en truchas dura alrededor de siete a ocho días, tiempo que le toma a las células epiteliales viajar desde la base de la lamela, donde se encuentra la célula progenitora, hasta llegar al ápice (Ferguson, 2006). Esta atrofia en la lamela puede progresar e involucrar la funcionalidad de las branquias si la reparación del epitelio no sucede en los tiempos estimados y si además el o los factores que lo provocaron alcanzan a actuar sobre las células progenitoras.

La degeneración celular es un hallazgo común en estudios de toxicidad y la del tipo hidrópica, hallada tanto en células del epitelio como en células basales indiferenciadas del filamento, puede ser debida al efecto de los metales pesados, de acuerdo a Roberts y Oris (2004) y Authman y Abbas (2007).

Por otro lado, la hipertrofia del epitelio fue vista tanto en el ápice como a lo largo de la lamela, Roberts y Oris (2004) obtuvieron similares cambios en branquias. La hiperplasia de células mucosas, se asocia como respuesta a una estimulación por Zn (Matthiessen y Brafield, 1973) y es considerada también como un mecanismo de defensa.

La degeneración, hipertrofia e hiperplasia celular fueron vistas junto a figuras de necrosis del epitelio, las células necróticas presentaban fragmentación nuclear y una palidez marcada, dando la apariencia de huellas celulares; estos resultados están de acuerdo con Authman y Abbas (2007).

Todas las alteraciones observadas en branquias pueden representar la suma de efectos de los metales detectados en este estudio, y principalmente de los de mayor concentración como Zn y Ba.

Una de las formas de cómo el Zn afecta al pez, la explica Skidmore (1970), quien sugiere que el daño epitelial por Zn disminuye la permeabilidad de las branquias al oxígeno y por ello no aumenta su permeabilidad a los cationes. En la exposición aguda controlada que realizó, el Zn no actuó como un rápido veneno interno, y él atribuyó la muerte de los tejidos a la hipoxia, cuando el máximo de ventilación branquial no era suficiente para abastecer las necesidades de oxígeno de los peces.

Información sobre lesiones por toxicidad a exposición natural del Ba en peces es escasa sino nula; sin embargo, el presente estudio atribuye que el Ba produce lesiones similares a las producidas por otros metales pesados debido a que se halló concentraciones altas en branquias.

### **5.3.2. Hígado**

El hígado de los peces tiene funciones metabólicas similares al de los mamíferos y tiene un importante rol en el mantenimiento de la homeostasis metabólica del organismo que incluye el procesamiento de compuestos vitales. El hígado juega también un rol clave en la detoxificación y la síntesis de compuestos y factores indispensables (Ferguson, 2006). Por ello, el daño producido por sustancias como los metales pesados y otras, pueden afectar seriamente la funcionalidad vital de este órgano y producir alteraciones en el metabolismo de varios compuestos.

En el presente estudio, la disposición y conformación de los hepatocitos fueron en su mayor parte conservadas; sin embargo, hubo lesiones que evidenciaron la alteración funcional de los hepatocitos (Cuadro 16). La degeneración hidrópica o vacuolar fue una de ellas, y también la que estuvo presente en todas las muestras analizadas en diferentes grados a nivel

difuso y focal. Se sugiere que la degeneración hidrópica fue producto de una alteración en el metabolismo de las proteínas debido a que, de acuerdo a Takashima e Hibiya (1995), es un estado mórbido en el que las células están tumefactas por la gran cantidad de proteína coloidal acumulada en el citoplasma, este se tiñe débilmente y muestra una configuración reticular o vacuolar. Esta lesión fue reportada por Authman y Abbas (2007) y Gaber (2007) a exposición controlada de Cu, Zn, Cd y Pb en tilapia del Nilo.

Por otro lado, la degeneración grasa fue otra lesión frecuente como también lo reportó Figueiredo-Fernandes *et al.* (2007) y Gaber (2007), a exposición controlada, y por Poleksic *et al.* (2010) y Rajeshkumar y Munuswamy (2011), a exposición natural. Similarmente, la degeneración grasa es producida por una acumulación de gran cantidad de lípidos en el citoplasma, mayormente de grasas neutras (Takashima e Hibiya, 1995), por lo que se puede sugerir que hubo factores que alteraron el metabolismo de los lípidos. La dilatación de sinusoides hepáticos se encontró en algunas muestras y coincide con los hallazgos de Authman y Abbas (2007) y Poleksic *et al.* (2010).

Otros cambios importantes se ubicaron en algunos núcleos de hepatocitos que presentaron múltiples nucléolos, entre dos y tres, los cuales suelen relacionarse con alteraciones en los mecanismos moleculares de ensamblaje del nucléolo, problemas que son más frecuentes en células tumorales, de acuerdo a Lloreta (2008); también se halló nucleolos únicos y prominentes los cuales suelen asociarse con una intensa actividad de síntesis proteica, frecuente tanto en tumores malignos como en tejidos en regeneración, de acuerdo a Ghadially (1997).

Norseth (1981) asocia el Cr con tumores malignos en humanos y animales, mientras que los efectos genotóxicos se reportan con Cd (Maret y Moulis, 2012), Cr (Goodale *et al.*, 2008) y Zn (ATSDR, 2005). Podemos sugerir que las alteraciones nucleares observadas en hígado pueden deberse a la acción genotóxica de algunos metales pesados sobre la reparación del ADN (Ercal *et al.*, 2001) y sobre la replicación del mismo (Singh y Snow, 1998; Vaisman *et al.*, 2001). Estas alteraciones que dificultan la eliminación del daño del ADN pueden incrementar el riesgo de cáncer (Carmona, 2009).

En otros casos, se observó en el núcleo la cromatina condensada y fragmentada (cariorrhexis), retracción del núcleo con cromatina condensada (picnosis) y disolución del núcleo (cariólisis), además de citoplasma homogéneo teñido similar a la eosina y pérdida de la citoarquitectura; estas lesiones son características de la necrosis celular, de acuerdo a Takashima e Hibiya (1995). La necrosis hepática, ha sido reportada por Figueiredo-Fernandes *et al.* (2007), Gaber (2007) y Poleksic *et al.* (2010).

La necrosis puede ser ocasionada por una variedad de agentes etiológicos; sin embargo, uno que cobra mayor importancia es el estrés oxidativo, el cual es un conocido inductor de especies reactivas de oxígeno (ROS) para los peces (Livingstone, 2003). Los metales pesados agotan el glutatión y grupos –SH, resultando en un aumento de ROS tales como el anión superóxido, peróxido de hidrógeno y radicales hidroxilo (Liu *et al.*, 2004). Así, Farombi *et al.* (2007) demostró que la alteración en las enzimas antioxidantes, el sistema glutatión y la inducción de peroxidación de lípidos reflejó la presencia de metales pesados que pueden causar estrés oxidativo en el bagre africano (*Clarias gariepinus*). Todos estos ROS tienen el potencial de desencadenar muerte celular (Vieira *et al.*, 2009).

### 5.3.3. Músculo estriado esquelético

El músculo estriado esquelético en el pez es importante para su movimiento y representa, para muchos de nosotros, la porción comestible. A pesar de ello, muchas investigaciones no contemplan este tejido (Ferguson, 2006). Por tanto, su evaluación debería ser considerada necesaria en los estudios donde se usan peces que sirven de alimento.

Este tejido fue uno de los más afectados por el edema intramuscular y degeneración (Cuadro 17). El edema intramuscular provocó la separación acentuada de fibras musculares y son lesiones similares a las reportadas por Bharat *et al.* (2011) a exposición subletal de Pb (4,3 mg/L) y Cd (1,6 mg/L) en carpa común o europea (*Cyprinus carpio communis*).

Si bien estos metales, Pb y Cd, se detectaron a bajas concentraciones en tejido, no se descarta su participación sinérgica, potenciadora o antagónica con los metales hallados en mayor concentración (Zn y Ba). Por ejemplo, Hemelraad *et al.* (1987) encontraron que el Zn ejerce efectos antagónicos sobre la absorción de Cd a través de las branquias en la almeja de agua dulce (*Anodonta cygea*), pero aceleró el transporte de Cd desde las branquias hacia los órganos internos. Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos por el presente estudio, donde no se detectó Cd en branquias pero sí en hígado y músculo estriado esquelético.

Los cambios patológicos rápidamente detectables en la fibra muscular son la necrosis de tipo coagulativa y licuefactiva, la última es considerada como el cambio más severo en este tejido y ambas necrosis son descritas por Takashima e Hibiya (1995). Bharat *et al.* (2011) reportaron figuras de necrosis muscular como en el presente estudio, mientras Rajeshkumar y Munuswamy (2011) observaron tumefacción de fibras musculares y ruptura de haces musculares. En algunos casos, la necrosis licuefactiva se acompañó de infiltración de células inflamatorias, las cuales ayudan a eliminar los restos celulares.

#### 5.4. Índice de alteración histopatológica

Los resultados (Figura 33 y 34) nos muestran a las branquias como el tejido más afectado en extensión e importancia, seguido por el hígado y músculo estriado esquelético, contrariamente a lo reportado por Poleksic *et al.* (2010) donde el hígado fue el más afectado, esto puede ser atribuido a las diferencias en concentración de metales pesados entre ambos estudios, siendo reportado niveles mayores por Poleksic *et al.* (2010).

Los índices hallados en branquias, de hasta 65, demuestran la sensibilidad de este tejido frente a la acción de agentes externos nocivos, dado que las branquias están en permanente contacto con el agua, que provocan alteraciones celulares y que pueden absorberse por esta vía respiratoria para luego distribuirse y bioacumularse en tejidos como hígado y músculo estriado esquelético. En hígado, los índices fueron similares a los hallados en branquias, esto puede ser debido al papel detoxificante que tiene el hígado; mientras en músculo estriado esquelético, que fue el de mayor bioacumulación de metales pesados, fueron notables los tipos de necrosis hallados.

En el presente estudio podemos sugerir que las concentraciones de metales pesados en tejido y los cambios histopatológicos observados en los mismos pueden estar asociados debido por la bioacumulación, que dependiendo de la concentración, pudo ocasionar lesiones en los tejidos estudiados.

Las lesiones encontradas en los tres tejidos analizados, se pueden atribuir a la acción conjunta de los metales bioacumulados, especialmente los de mayor cantidad como Zn y Ba. Los metales pueden actuar conjuntamente para potenciar su toxicidad o pueden comportarse como antagonistas (Eisler, 1993). Por ello, se asume que las lesiones encontradas no son producto de un elemento en particular, sino una sumatoria de interacciones en el tejido afectado, dado además que en un ambiente natural hay una amplia cantidad de sustancias dañinas que pueden intervenir.

## **VI. CONCLUSIONES**

El presente estudio demostró que el sedimento de la laguna Mamacocha presentó concentraciones por encima de los LMP de As, Cd y Hg, a pesar de presentar niveles por debajo de los LMP en agua. Esto nos proporciona información sobre la cronicidad de la contaminación que se produce en la laguna y sobre las probables consecuencias negativas para el ecosistema si se liberan metales como As, Cd, Cr, Hg y Pb desde el sedimento hacia el cuerpo de agua.

En los tres tejidos analizados se demostraron concentraciones altas de Zn y Ba, para los cuales no existen referencias sobre LMP, así como Cd, Cu, Cr y Pb por debajo de los LMP. Además, se demostró la presencia de lesiones degenerativas y necrosis en branquias, hígado y músculo estriado esquelético, las cuales podemos sugerir que se relacionan al contenido bioacumulado en los tejidos debido a que las lesiones son similares a las reportadas en varias investigaciones a exposición natural y controlada a metales pesados. Debido a que los peces estuvieron en un ambiente contaminado por metales pesados a exposición natural también es probable la acción de numerosas sustancias que pueden intervenir y alterar la acción tóxica de los metales pesados.

Para finalizar, es importante evaluar el contenido de metales pesados tanto en agua como en los organismos de distintos niveles tróficos, debido a la bioacumulación y biomagnificación, y además, muy importante, en el sedimento por actuar como fuente acumuladora y liberadora de sustancias tóxicas de acuerdo a factores que la modifican.

## **VII. RECOMENDACIONES**

Las actividades mineras a cielo abierto, desde el proceso de preexploración, son muy contaminantes y se sugiere se lleven a cabo de una manera más controlada sin perjudicar los ecosistemas aledaños.

Monitorear los parámetros físico-químicos y de metales pesados en la laguna Mamacocha (sedimento, agua y biota) regularmente para determinar la variabilidad en las concentraciones de cada sustancia.

Monitorear los parámetros físico-químicos y de metales pesados en el medio ambiente (aire, suelo y agua subterránea) para establecer posibles rutas de contaminación hacia la laguna Mamacocha.

Se sugiere desarrollar técnicas de biorremediación en la laguna Mamacocha, de ser posible, para reducir las altas concentraciones de metales en el sedimento.

Establecer LMP para los metales pesados en sedimento, así como también considerar sustancias tóxicas no metálicas.

Todas estas recomendaciones se pueden aplicar a los cuerpos de agua de las distintas regiones del Perú y hacerlas públicas por ser de interés medioambiental.



## VIII. LITERATURA CITADA

1. **Aaseth J, Norseth T. 1986.** Copper. In Friberg L, Nordberg GF, Vouk VB, eds. Handbook on the toxicology of metals. Second edition. Volume II: specific metals. New York:Elsevier, p233-254.
2. **[AECO-AT] Asociación Ecologista Costarricense - Amigos de la Tierra. 2001.** Minería de cielo abierto y sus impactos ambientales. Preparado para el frente Nacional de Oposición a la minería de Oro a Cielo Abierto. Ed. AECO-AT, Costa Rica, 10 p. Cita Vaughan (1989) y Kussmaul (1989).
3. **Adami GM, Barbieri P, Fabiani M, Piselli S, Predonzani S, Reisenhofer E. 2002.** Levels of cadmium and zinc in hepatopancreas of reared *Mytilus galloprovincialis* from the Gulf of Trieste (Italy). Chemosphere 48 (7), 671–677.
4. **[ATSDR] Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 1990.** Toxicological profile for copper. U.S. Public Health Service, Atlanta, Georgia, TP-90-08. 143 pp.
5. **[ATSDR] Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 1999.** Toxicological profile for cadmium. U.S. Public Health Service, Department of Health and Human Services, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, GA.
6. **[ATSDR] Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 1999.** Toxicological profile for Mercury. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.
7. **[ATSDR] Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 2005.** Toxicological profile for zinc. U.S. Department of health and human services. Public Health Service.
8. **[ATSDR] Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 2007.** Toxicological profile for Arsenic. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.
9. **[ATSDR] Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 2007.** Toxicological profile for barium and barium compounds. U.S. Department of health and human services. Public Health Service.
10. **[ATSDR] Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 2011.** The ATSDR 2011 Substance Priority List. Priority List of Hazardous Substances. Division of Toxicology and Human Health Sciences. Atlanta, GA 30333.
11. **Albert LA. 1997.** Introducción a la toxicología ambiental. Capítulo 4 Contaminación ambiental. Origen, clases, fuentes y efectos. Metepec, ECO. pp 37-52.

12. **Alberswerth D, Carlson C, Horning J, Elderkin S, Mattox S. 1992.** Poisoned profits: Cyanide heap leach mining and its impacts on the environment. Washington, DC: National Wildlife Federation.
13. **Aliaga ED, Palomino EJ, Yupanqui E, Salvador ML, Bobadilla MC, Hilden F, López MN. 2009.** Capacidad de las plantas nativas en ambientes con drenaje ácido para la bioacumulación de metales pesados. Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo. Perú.
14. **Altindag A, Yigit S. 2005.** Assessment of heavy metal concentrations in the food web of lake Beyşehir, Turkey. *Chemosphere* 60: 552-556.
15. **[ASTM] American Society for Testing and Materials. 2003.** Standard guide for collection, storage, characterization, and manipulation of sediments for toxicological testing and for selection of samples used to collected benthic invertebrates. E1391-03. ASTM 2003 Annual Book of Standards Volume 11.05. West Conshohocken, Pennsylvania.
16. **Araújo FG. 1998.** Adaptation of the index of biotic integrity based on fish assemblages in the Paraíba do Sul River, RJ, Brazil. *Rev Bras Biol* vol 58: núm 4.
17. **Arcos D. 1998.** Minería del cobre, ecología y ambiente costero. Minería escondida Ltda., 350-410 pp.
18. **Arnot JA, Gobas FAPC. 2006.** A review of bioconcentration factor (BCF) and bioaccumulation factor (BAF) assessments for organic chemicals in aquatic organisms. *Environ. Rev.* 14: 257-297.
19. **Aruguete DM, Aldstadt JH, Mueller GM. 1998.** Accumulation of several heavy metals and lanthanides in mushrooms (Agaricales) from the Chicago region. *The science of the total environment*, 224:43–56.
20. **Aschner M, Aschner JL. 1990.** Mercury neurotoxicity: Mechanisms of blood-brain barrier transport. *Neurosci Biobehav Rev* 14(2):169-176.
21. **[AOAC] Association of Official Analytical Chemists. 2005a.** AOAC Official Method 971.21. Mercury in Food. Flameless Atomic Absorption Spectrophotometric Method. Official Methods of Analysis of AOAC International, 18th edition.
22. **[AOAC] Association of Official Analytical Chemists. 2005b.** AOAC Official Method 985.01. Metals and other elements in plants and pet foods. Official Methods of Analysis of AOAC International, 18th edition.
23. **Armstrong FAJ. 1979.** Effects of mercury compounds on fish. Pages 657-670 in J.O. Nriagu (Ed.). *The biogeochemistry of mercury in the environment*. Elsevier/North-Holland Biomedical Press, New York.
24. **Atchison GJ, Henry MG, Sandheinrich MB. 1987.** Effects of metals on fish behavior: A review. *Environmental Biology of Fishes* 18: 11–25.
25. **Aucoin J, Blanchard R, Billiot C. 1999.** Trace metals in fish and sediments from Lake Boeuf, SouthEastern Louisiana. *Micro Chem J* 62 (2): 299-307.
26. **Auro A, Ocampo L. 1999.** Diagnóstico del estrés en peces. Artículo de revisión. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, D.F.
27. **Authman MM, Abbas HH. 2007.** Accumulation and distribution of copper and zinc in both water and some vital tissues of two fish species (*Tilapia zillii* and *Mugilcephalus*) of Lake Qarun, Fayoum Province, Egypt. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 10 (13): 2103-2122.
28. **Bailar JC, Emeleus HJ, Nyholm R, Trotman-Dickenson AF. 1973.** Comprehensive inorganic chemistry. Pergamon Press, New York.
29. **Baird C. 2001.** Environmental Chemistry. Second edition. Ed W.H. Freeman and Company, New York, USA. 648 pp.
30. **Basa SP, Usha Rani A. 2003.** Cadmium induced antioxidant defense mechanism in freshwater teleost *Oreochromis mossambicus* (Tilapia). *Eco Toxicol Environ Saf* 56 (2): 218–221.

31. **Beckvar N, Field J, Salazar S, Hoffman DJ. 1996.** Contaminants in aquatic habitats at hazardous waste sites: mercury. National Oceanic and Atmospheric Administration, Hazardous Materials Response and Assessment Division, NOAA Technical Memorandum NOS ORCA 100. Seattle, WA.
32. **Belton JC, Benson NC, Hanna ML, Taylor RT. 1985.** Growth inhibitory and cytotoxic effects of three arsenic compounds on cultured Chinese hamster ovary cells. *J. Environ. Sci. Health* 20A:37-72.
33. **Bernet D, Schmidt H, Meier W, Burkhardt-Holm P, Wahli T. 1999.** Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. *J Fish Dis* 22: 25–34.
34. **Bharat B, Howrelia H, Mathews T, Selvanayagam M. 2011.** Histopathology of gill, liver, muscle and brain of *Cyprinus carpio communis* L. exposed to sublethal concentration of lead and cadmium. *African Journal of Biotechnology* Vol. 10(57), pp 12218-12223.
35. **Bryan GW, Langston WG. 1992.** Bioavailability, accumulation and effects of heavy metals in sediments with special reference to United Kingdom estuaries: A review. *Environ. Pollut.* 76:89–131.
36. **Buhl KJ, Hamilton SJ. 1990.** Comparative toxicity of inorganic contaminants released by placer mining to early life stages of salmonids. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 20:325-342.
37. **Buhl KJ, Hamilton SJ. 1991.** Relative sensitivity of early life stages of Arctic grayling, Coho salmon, and rainbow trout to nine inorganics. *Ecotoxicol Environ Saf* 22: 184–197.
38. **Burton DT, Jones AH, Cairns J. 1972.** Acute zinc toxicity to rainbow trout (*Salmogairdneri*): Confirmation of the hypothesis that death is related to tissue hypoxia. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 29 (10): 1463-1466.
39. **Calamari D, Gaggino GF, Pacchetti G. 1982.** Toxicokinetics of low levels of Cd, Cr, Ni and their mixture in long-term treatment on *Salmogairdneri* Rich. *Chemosphere* 11:59-70.
40. **Calcina LE. 2006.** Presencia de metales pesados en la biota acuática (*Orestiasp.* y *Schoenoplectustatora*) de la desembocadura del río Ramis – lago Titicaca.
41. **Campbell PGC, Tessier A. 1996.** Ecotoxicology of metals in aquatic environments: Geochemical aspects. In: *Ecotoxicology: A hierarchical treatment*, M.C. Newman and C.H. Jagoe, eds. Lewis Publishers, Boca Raton. FL.
42. **[CCME] Canadian Council of Ministers of the Environment. 1997.** Canadian soil quality guidelines for copper: Environmental and human health. Draft document.
43. **[CCME] Canadian Council of Ministers of the Environment. 1999.** Canadian sediment quality guidelines for the protection of aquatic life: Arsenic. In: *Canadian environmental quality guidelines, 1999*, Canadian Council of Ministers of the Environment, Winnipeg.
44. **[CCME] Canadian Council of Ministers of the Environment. 1999a.** Canadian sediment quality guidelines for the protection of aquatic life: Cadmium. In: *Canadian environmental quality guidelines, 1999*, Canadian Council of Ministers of the Environment, Winnipeg.
45. **[CCME] Canadian Council of Ministers of the Environment. 1999.** Canadian sediment quality guidelines for the protection of aquatic life: Copper. In: *Canadian environmental quality guidelines, 1999*, Canadian Council of Ministers of the Environment, Winnipeg.
46. **[CCME] Canadian Council of Ministers of the Environment. 1999b.** Canadian water quality guidelines for the protection of aquatic life: Cadmium. In: *Canadian environmental quality guidelines, 1999*, Canadian Council of Ministers of the Environment, Winnipeg.
47. **[CCME] Canadian Council of Ministers of the Environment. 1999.** Canadian sediment quality guidelines for the protection of aquatic life: Chromium. In: *Canadian environmental quality guidelines, 1999*, Canadian Council of Ministers of the Environment, Winnipeg.

- 48.[CCME] *Canadian Council of Ministers of the Environment. 1999.* Canadian sediment quality guidelines for the protection of aquatic life: Mercury. In: Canadian environmental quality guidelines, 1999, Canadian Council of Ministers of the Environment, Winnipeg.
- 49.[CCME] *Canadian Council of Ministers of the Environment. 1999.* Canadian soil quality guidelines for the protection of environmental and human health: Zinc (1999). In: Canadian environmental quality guidelines, 1999, Canadian Council of Ministers of the Environment, Winnipeg.
- 50.[CCME] *Canadian Council of Ministers of the Environment. 2013.* Canadian soil quality guidelines for the protection of environmental and human health: Barium. In: Canadian environmental quality guidelines, Canadian Council of Ministers of the Environment, Winnipeg.
- 51.[CEQGs] *Canadian Environmental Quality Guidelines. 1999.* Summary of existing Canadian environmental quality guidelines. Canadian council of ministers of the environment.11p.
- 52.[CFIA] *Canadian Food Inspection Agency. 2011.* Appendix 3: Canadian guidelines for chemical contaminants and toxins in fish and fish products. En: Fish products standards and methods manual. p 137.
- 53.*Canli M, Ay O, Kalay M. 1998.* Levels of heavy metals (Cd, Pb, Cu, Cr and Ni) in tissues of *Cyprinus carpio*, *Barbus capito* and *Chondrostoma regium* from the Seyhan River, Turkey. Turk J. Zool. 22:149-157.
- 54.*Carmona ER. 2009.* Evaluación genotóxica de algunos metales pesados en *Drosophila melanogaster* mediante los ensayos SMART de alas y cometa. Tesis Doctoral de la Universidad Autónoma de Barcelona. pp169.
- 55.*Chen CY, Stemberger RS, Klaue B, Blum JD, Pickhardt PC, Folt CL. 2000.* Accumulation of heavy metals in food web components across a gradient of lakes. Limnol Oceanogr 45 (7): 1525-1536.
- 56.*Chung B. 2011.* Artículo especial la minería aurífera en el Perú y la contaminación del ambiente. Rev Acad Peru Salud 18(2).
- 57.*Clarkson TW. 1995.* Environmental contaminants in the food chain. Am J Clin Nutr 61(3):682s-686s.
- 58.*Clements WH. 1992.* Bioaccumulation of heavy metals by brown trout (*Salmo trutta*) in the Arkansas River: importance of food chain transfer. Colorado Water Resources Research Institute, Colorado State University.
- 59.[CICAD] *Concise International Chemical Assessment Document 33. 2001.* Barium and barium compounds. United Nations Environment Programme, International Labour Organization, and World Health Organization. Geneva.
- 60.*Connell DW, Miller GJ. 1984.* Chemistry and ecotoxicology of pollution. John Wiley & Sons, NY. Hazen, T.C., (1997). Bioremediation in Microbiology of the terrestrial Subsurface. P. Amy and D. Haldeman eds. pp.247-266.
- 61.*Contreras-Balderas S, Edwards RJ, Lozano-Vilano ML, García ME. 2002.* Índice biológico de integridad en el río Sabinas, Coahuila, México. En: Proceedings of the Desert Fishes Council volume XXXIII Annual Symposium. Texas: Sul Ross State University Alpine.
- 62.*Cornelis R, Nordberg M. 2007.* General chemistry, sampling, analytical methods, and speciation. En Nordberg G, Fowler B, Nordberg M, Friberg L, eds. Handbook on the Toxicology of Metals. 3ª Ed. USA: Elsevier. 29-35 pp.
- 63.*Crandall CA, Goodnight CJ. 1962.* Effects of sublethal concentrations of several toxicants on growth of the common guppy, *Lebistes reticulatus*. Limnology and Oceanography 7 (2): 233-239.
- 64.*Cullen WR, Reimer KJ. 1989.* Arsenic speciation in the environment. Chem. Rev. 89:713–764.

65. **Dallinger R, Kautzky H. 1985.** The importance of contaminated food uptake for the heavy metals by rainbow trout (*Salmo gairdneri*): a field study. *Oecologia (Berl)* 67: 82-89.
66. **Dallinger R, Prosi F, Back H. 1987.** Contaminated food and uptake of heavy metals by fish: a review and a proposal for further research. *Oecologia (Berl)* 73: 91-98.
67. **Daoust P-Y, Wobeser G, Newstead JD. 1984.** Acute pathological effects of inorganic mercury and copper in gills of rainbow trout. Department of Veterinary Pathology and Department of Anatomy, University of Saskatchewan, Saskatoon. Canada. *Vet. Pathol.* 21: 93-101.
68. **Dávila J. 2011.** Diccionario geológico. 3ª ed. Lima: Instituto geológico minero y metalúrgico. 901 pp.
69. **Deegan LA, Finn J, Ayvazian SG, Ryder-Kieffer CA, Buonaccosi J. 1997.** Development and validation of an estuarine biotic integrity index. *Estuaries* 20: 601-617.
70. **DiBello PM, Manganaro JL, Aguinaldo ER. 1991.** Barium compounds. In: Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology. 4th edition, vol. 3. John Wiley and Sons, New York, Chichester, Brisbane, Toronto and Singapore. pp. 909-931.
71. **Doi R, Ohno H, Harada M. 1984.** Mercury in feathers of wild birds from the mercury-polluted area along the shore of the Shiranui Sea. *Sci. Total Environ.* 40:155-167.
72. **Duffus JH. 2002.** "Heavy metals"- A meaningless term? (IUPAC Technical report). *Pure Appl Chem* 74: 793-807.
73. **Ecological Analysts Inc. 1981.** The sources, chemistry, fate, and effects of chromium in aquatic environments. Avail. from American Petroleum Institute, 2101 L St., N.W., Washington, DC 20037. 207 pp.
74. **Eisler R. 1986.** Chromium hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. U.S. Fish and Wildlife Service Biological Report 85 (1.6). 60 pp.
75. **Eisler, R. 1987.** Mercury hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. U.S. Fish and Wildlife Service Biological Report 85(1.10).
76. **Eisler R. 1988.** Arsenic hazards to fish, wildlife and invertebrates: A synoptic review. U.S. Fish Wildl. Serv. Biol. Rep. 85(1.12).
77. **Eisler R. 1993.** Zinc hazards to fish, wildlife, and invertebrates: A synoptic review. Biol. Rep. 10. U.S. Department of the Interior, Fish and Wildlife Service, Laurel, Maryland. 126 pp.
78. **Eisler R. 1998.** Copper hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. U.S. Geological Survey, Biological Resources Division, Biological Science Report USGS/BRD/BSR--1998-0002.
79. **Elewa AA, Shehata MB, Abdel Satar AM, Ali MHH, Gohar ME. 2001.** Effect of the drainage water on Lake Qarun ecosystem, Egypt. Presented in 9th international Conference on the Conservation and Management of Lakes 11–16 November, 2001. Shigha Prefectural Government – Japan.
80. **Elinder CG. 1986.** Zinc. Pages 664-679 in L. Friberg, G. E Nordberg, and V. B. Vouk, editors. Handbook on the toxicology of metals, second edition. Volume II: specific metals. Elsevier, New York.
81. **Environment Canada. 1996.** Canadian soil quality guidelines for zinc: Environmental. Supporting document—Final draft. December 1996. Science Policy and Environmental Quality Branch, Guidelines Division, Ottawa.
82. **Environment Canada. 1997.** Canadian sediment quality guidelines for cadmium: Supporting document. Environmental Conservation Service, Ecosystem Science Directorate, Science Policy and Environmental Quality Branch, Guidelines and Standards Division, Ottawa.
83. **Environment Canada. 1997.** Canadian water quality guidelines for chromium. Supporting document. Environment Canada, Science Policy and Environmental Quality Branch, Ottawa. Unpub. draft doc.

84. **Environment Canada. 1997.** Canadian sediment quality guidelines for mercury: Supporting document. Environmental Conservation Service, Ecosystem Science Directorate, Science Policy and Environmental Quality Branch, Guidelines and Standards Division. Ottawa.
85. **Environment Canada. 1998.** Canadian sediment quality guidelines for arsenic: Supporting document. Environmental Conservation Service, Ecosystem Science Directorate, Science Policy and Environmental Quality Branch, Guidelines and Standards Division, Ottawa. Draft.
86. **Environment Canada. 1998.** Canadian sediment quality guidelines for chromium: Supporting document. Environmental Conservation Service, Ecosystem Science Directorate, Science Policy and Environmental Quality Branch, Guidelines and Standards Division, Ottawa. Draft.
87. **Environment Canada. 1998.** Canadian sediment quality guidelines for copper: Supporting document. Environmental Conservation Service, Ecosystem Science Directorate, Science Policy and Environmental Quality Branch, Guidelines and Standards Division, Ottawa. Draft.
88. **Ercal N, Gurer-Orhan H, Aykin-Burns N. 2001.** Toxic metals and oxidative stress part I: mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. *Curr Top Med Chem.* 1(6):529-539.
89. **[EFSA] European Food Safety Authority. 2006.** Tolerable upper intake levels for vitamins and minerals. Scientific Committee on Food. Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies. February 2006. 480 pp.
90. **[EU] European Union. 2006.** Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs (Text with EEA relevance).
91. **Farombi EO, Adelowo OA, Ajimoko YR. 2007.** Biomarkers of oxidative stress and heavy metal levels as indicators of environmental pollution in African Cat fish (*Clarias gariepinus*) from Nigeria Ogun River. *Int J. Environ. Res. Public Health*, 4: 158-165.
92. **Fatima M, Usmani N. 2013.** Histopathology and bioaccumulation of heavy metals (Cr, Ni and Pb) in fish (*Channa striatus* and *Heteropneustes fossilis*) Tissue: A study for toxicity and ecological impacts. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 16: 412-420.
93. **Ferguson JF, Gavis J. 1972.** A review of the arsenic cycle in natural waters. *Water. Res.* 6:1259–1274.
94. **Ferguson HW. 1989.** Systematic pathology of fish. A text and atlas of comparative tissue responses in diseases of teleosts. 2<sup>a</sup> ed. Iowa: Iowa State University. 366 p.
95. **Ferguson HW. 2006.** Systematic pathology of fish. A text and atlas of normal tissues in teleosts and their responses in disease. Second edition by HW Ferguson. Scotian Press: London. 368 p.
96. **Fichet D, Boucher G, Radenac G, Miramand P. 1999.** Concentration and mobilization of Cd, Cu, Pb and Zn by meiofauna populations living in harbour sediment: their role in the heavy metal flux from sediment to food web. *Sci Total Environ* 243/244: 263-272.
97. **Figueiredo-Fernandes A, Ferreira-Cardoso JV, Garcia-Santos S, Monteiro SM, Carrola J, Matos P, Fontainbas-Fernandes A. 2007.** Histopathological changes in liver and gill epithelium of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, exposed to waterborne copper. *Pesq. Vet. Bras.* 27(3):103-109.
98. **[FAO] Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2012.** El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2012. Departamento de Pesca y Acuicultura. Roma, Italia. 231 pp.
99. **Förstner U, Wittmann G. 1981.** Metal pollution in the aquatic environment. Berlin, 2da Ed. Springer-Verlag, Heildelberg, 112 pp.
100. **Förstner U, Ahlf W, Calmano W. 1993.** Sediment quality objectives and criteria development in Germany. *Water Science and technology*, 28: 307.
101. **Foulkes EC. 1985.** Interactions between metals in rat jejunum: Implications on the nature of cadmium uptake. *Toxicology* 37:117-125.

102. **Foulkes EC, Blanck S. 1990.** Acute cadmium uptake by rabbit kidneys: Mechanism and effects. *Toxicol Appl Pharmacol* 102:464-473.
103. **Foulkes EC. 1993.** Metallothionein and glutathione as determinants of cellular retention and extrusion of cadmium and mercury. *Life Sci* 52:1617-1620.
104. **Francesconi KA, Edmonds JS. 1993.** Arsenic in the sea. *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.* 31:111–151.
105. **Freeman MC, Aggett J, O'Brien G. 1986.** Microbial transformations of arsenic in Lake Ohakuri, New Zealand. *Water Res.* 20:283-294.
106. **Fuentealba IC, Haywood S, Foster J. 1989.** Cellular mechanisms of toxicity and tolerance in the copper-loaded rat. III. Ultrastructural changes and copper localization in the kidney. *Br J Exp Pathol* 70(5):543-556.
107. **Gaber H. 2007.** Impact of certain heavy metals on the gill and liver of the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Egypt. J. Aquat. Biol. & Fish. Vol. 11, 2:79-100.
108. **Galán E, Romero A. 2008.** Contaminación de suelos por metales pesados. Conferencia invitada. Revista de la sociedad española de mineralogía. Macla (10): 48-60.
109. **Gerson AF, Williams WP, Bailey RG. 2000.** Fish assemblages as indicators of water quality in the middle Thames estuary, England (1980-1989). *Estuaries* 23 (3): 305-317.
110. **Ghadially FN. 1997.** Ultrastructural Pathology of the Cell and Matrix. Boston: Butterworth-Heinemann.
111. **Ghanmi Z, Rouabhia M, Othmane O, Deschaux PA. 1989.** Effects of metal ions on cyprinid fish immune response: in vitro effects of  $Zn^{2+}$  and  $Mn^{2+}$  on the mitogenetic response of carp pronephros lymphocytes. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 17:183-189.
112. **Giattina JD, Garton RR. 1983.** A review of the preference-avoidance responses of fish to contaminants. *Residual Reviews* 87: 43–90.
113. **Gill TS, Tewari H, Pande J. 1991.** In vivo and in vitro effects of cadmium on selected enzymes in different organs of the fish *Barbus conchoni* Ham. (Rosy barb). *Comp Biochem Physiol C*; 100:501–505.
114. **Ginawi OT. 2007.** Bioaccumulation and biomagnification. King Saud University. Dept. of Pharmacology. [Internet] [Agosto 2013] Disponible en: <http://faculty.ksu.edu.sa/58803/Documents/Forms/AllItems.aspx>
115. **Giordano PM, Mortvedt JJ. 1980.** Zinc uptake and accumulation by agricultural crops. In: Zinc in the environment, Part II, Health effects, J.O. Nriagu, ed. John Wiley and Sons, New York.
116. **Goodale BC, Walter R, Pelsue SR, Thompson WD, Wise SS, Winn RN. 2008.** The cytotoxicity and genotoxicity of hexavalent chromium in medaka (*Oryzias latipes*) cells. *Aquat Toxicol.* 87(1):60–7.
117. **Goodwin FE. 1998.** Zinc compounds. In: Kroschwitz J, Howe-Grant M, eds. *Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology*. New York, NY: John Wiley & Sons, Inc., 840-853.
118. **Gorby MS. 1988.** Arsenic poisoning. Clinical Conference. *West J Med* Sep; 149:308-315.
119. **Gormican A. 1970.** Inorganic elements in foods used in hospital menus. *Journal of the American Dietetic Association*, 56:397–403.
120. **Government of Canada. 1993.** Arsenic and its compounds. Canadian Environmental Protection Act Priority Substances List Supporting Document. Health and Welfare Canada and Environment Canada, Ottawa.
121. **Goyer RA. 1986.** Toxic effects of metals. Pages 582-635 in C. D. Klaassen, M. O. Amdur, and J. Doull, editors. *Casarett and Doull's toxicology*. Third edition. Macmillan, New York.

122. **Goyer RA. 1991.** Transplacental transfer of cadmium and fetal effects. *Fundam Appl Toxicol*, 16(1):22–23.
123. **Harikumar PS, Nasir UP, Mujeebu Rahman MP. 2009.** Distribution of heavy metals in the core sediments of a tropical wetland system. *Int J Environ Sci Tech* 6: 225-232.
124. **Harris ED, Qian Y, Tiffany-Castiglioni E. 1998.** Functional analysis of copper homeostasis in cell culture models: a new perspective on internal copper transport. *Am J Clin Nutr* 67:988S-995S.
125. **Haswell SJ, O'Neill P, Bancroft KC. 1985.** Arsenic speciation in soil-pore waters from mineralized and unmineralized areas of south-west England. *Talanta* 32:69-72.
126. **Hawryshyn CW, Mackay WC, Nilsson TH. 1982.** Methyl mercury induced visual deficits in rainbow trout. *Canad. J. Zool.* 60:3127-3133.
127. **Health Canada. 2005.** Canadian total diet study. Ottawa, Ontario: Health Canada.
128. **Hem JD. 1961.** "Some aspects of chemical equilibrium in ground water", in Ground water contamination, US Public Health Service Symposium, Robert A. Taft sanitary engr. Cntr. Report W61-5.
129. **Hemelraad J, Kleinveld HA, De Roos AM, Holwerda DA, Zandee DI. 1987.** Cadmium kinetics in freshwater clams. III. Effects of zinc on uptake and distribution of cadmium in *Anodonta cygnea*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 16:95-101.
130. **Hinton DE, Baumann PC, Gardner GR, Hawkins WE, Hendricks JD, Murchelano RA, Okihiro MS. 1992.** Histopathological biomarkers. In: R. J. Huggett, R. A. Kimerle, P. M. Mehrle-Jr, H. L. Bergman (eds.), *Biomarkers: biochemical, physiological, and histological markers of anthropogenic stress*. Lewis Publishers, Boca Raton, FL.
131. **Hocker PM. 1989.** Cúmulos de oro, lagunas de veneno, manantiales de cianuro. *Educative Materials*, Mineral Policy Center, Autumn 1989, pp. 6-11. Traducido al castellano por la Asociación Ecologista Costarricense-Amigos de la Tierra Costa Rica, 8 p.
132. **Hood RD, Vedel-Macrande GC, Zaworotko MJ, Tatum FM, Meeks RG. 1987.** Distribution, metabolism, and fetal uptake of pentavalent arsenic in pregnant mice following oral or intraperitoneal administration. *Teratology* 35:19-25.
133. **Hogstrand C, Haux C. 1990.** Metallothionein as an indicator of heavy-metal exposure in two subtropical fish species. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 138: 69-84.
134. **Howard AG, Arbab-Zavar MH, Apte S. 1984.** The behaviour of dissolved arsenic in the estuary of the River Beaulieu. *Estuarine Coastal Shelf Sci.* 19:493-504.
135. **Ingersoll C, Dillon T, Biddinger R (Eds.). 1997.** Methodological uncertainty in sediment ecological risk assessment. In: *Ecological Risk Assessments of Contaminated Sediment*. SETAC Press. Pensacola, Florida. 389 pp.
136. **[INEI] Instituto Nacional de Estadística e Informática. 1998.** Perú: Estadísticas del medio ambiente. Dirección técnica de demografía e indicadores sociales. Lima – Perú.
137. **[INEI] Instituto Nacional de Estadística e Informática. 2011.** Perú: Anuario de Estadísticas Ambientales. Dirección Técnica de Demografía e Indicadores Sociales. Lima – Perú. 532 pp.
138. **Iroká Z, Drastichová J. 2004.** Biochemical markers of aquatic environment contamination - cytochrome p450 in fish. A Review. *Acta Vet Brno* 73: 123-132.
139. **[ITP] Instituto Tecnológico Pesquero. 2002.** Anexo 01 Lista de sustancias químicas indicando sus límites máximos permisibles para la acuicultura. Control de residuos de medicamentos veterinarios, sustancias prohibidas y plaguicidas en la acuicultura. Dirección de Inspección y Control Sanitario. División de Control Sanitario del Medio Ambiente Acuicola. Perú. 14 pp.



140. **Jamall IS, Naik M, Sprowls JJ. 1989.** A comparison of the effects of dietary cadmium on heart and kidney oxidant enzymes: Evidence for the greater vulnerability of the heart to cadmium toxicity. *J Appl Toxicol* 9:339-345.
141. **Jamall IS, Smith JC. 1985a.** Effects of cadmium on glutathione peroxidase, superoxide dismutase and lipid peroxidation in the rat heart: A possible mechanism of cadmium cardiotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 80:33-42.
142. **Jamall IS, Smith JC. 1985b.** The effects of dietary selenium on cadmium binding in rat kidney and liver. *Arch Toxicol* 56:252-255.
143. **Johnson WW, Finley MT. 1980.** Handbook of acute toxicity of chemicals to fish and aquatic invertebrates. U.S. Fish Wildl. Serv. Resour. Publ. 137. 98 pp.
144. **Jones JRE. 1938.** The relative toxicity of salts of lead, zinc, and copper to the stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.) and the effect of calcium on the toxicity of lead and zinc salts. *Journal of Experimental Biology* 15: 394-407.
145. **Kamunde C, Grosell M, Higgs D, Wood CM. 2002.** Copper metabolism in actively growing rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): interactions between dietary and waterborne copper uptake. *The Journal of Experimental Biology* 205, 279–290.
146. **Kane AS, Salierno JD, Brewer SK. 2005.** Fish models in behavioral toxicology: Automated techniques, updates and perspectives. In: Ostrander, G.K. (ed.) *Methods in aquatic toxicology* 2: 559–590.
147. **Karr RJ. 1981.** Assessment of biotic integrity using fish communities. *Fisheries* 6(6): 21-27.
148. **Kay J, Thomas DG, Brown MW, Cryer A, Shurben D, Solbe JFG, Garvey JS. 1986.** Cadmium accumulation and protein binding patterns in tissues of the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Environmental health perspectives*. Vol. 65. pp 133-139.
149. **Kelly MG, Whitton BA. 1989.** Interspecific differences in Zn, Cd, and Pb accumulation by freshwater algae and bryophytes. *Hydrobiologia* 175: 1-11.
150. **Khangarot BS, Tripathi DM. 1990.** Gill damage to catfish, *Saccobranhus fossilis* following exposure to chromium. *Water Air Soil Pollut.* 53, 379-39.
151. **Koch M, Appoloni O, Haufroid V, Vincent JL, Heures PL'. 2003.** Acute barium intoxication and hemodiafiltration. *J Toxicol Clin Toxicol* 41(4):363-367.
152. **Kotsanis N, Iliopoulou GJ. 1999.** Arsenic induced liver hyperplasia and kidney fibrosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by microinjection technique: a sensitive animal bioassay for environmental metal-toxicity. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 62: 169-178.
153. **Krantzberg G, Stokes PM. 1989.** Metal regulation, tolerance, and body burdens in the larvae of the genus *Chironomus*. *Can J Fish Aquat Sci* 46: 389-398.
154. **Langard S, Norseth T. 1979.** Chromium. In Friberg L, Nordberg GF, Vouk VB, eds. *Handbook on the toxicology of metals*. Elsevier/North Holland Biomedical Press. p383-397.
155. **Leckie JO, Davis JA. 1979.** Aqueous environmental chemistry of copper. In Nriagu JO, ed. *Copper in the environment*. Part 1: ecological cycling. New York:John Wiley, p89-121.
156. **Leonard A, Gerber GB. 1989.** Zinc toxicity: does it exist? *Journal of the American College of Toxicology* 8:1285-1290.
157. **Liu J, Qu W, Kadiiska MB. 2004.** Role of oxidative stress in cadmium toxicity and carcinogenesis, *Toxicol Appl Pharmacol*, 238: 209-214.
158. **Livingstone DR. 2003.** Oxidative stress in aquatic organism in relation to pollution and agriculture. *Revue deMedecine Veterinaire* 154, 427–430.

159. **Llobet JM, Domingo JL, Corbella J. 1988b.** Antidotes for zinc intoxication in mice. *Arch Toxicol* 61:321-323.
160. **Lloreta J. 2008.** La apariencia óptica de las células y los tejidos patológicos desentrañada a través del microscopio electrónico. Bases ultraestructurales de la microscopía óptica. Revisiones. *Revista Española de Patología*. Vol. 41, Nº 1.
161. **Lloyd R. 1960.** The toxicity of zinc sulphate to rainbow trout. *Annals of Applied Biology* v 48(1): 84-94.
162. **López J, García O, Grima J, Ballesteros BJ, Pérez M. 2001.** Técnicas de biorrecuperación *insitu* en acuíferos contaminados por metales pesados. Instituto Geológico y Minero de España. Oficina de Proyectos de Valencia.
163. **Lund BO, Miller DM, Woods JS. 1993.** Studies on Hg(II)-induced H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> formation and oxidative stress in vivo and in vitro in rat kidney mitochondria. *Biochem Pharmacol* 45(10):2017-2024.
164. **MacDonald DG, Wood CM. 1993.** Branchial mechanisms of acclimation to metals in freshwater fish. In: Rankin JC, Jensen FB (eds.), *Fish Ecophysiology*. London: Chapman & Hall 297–321.
165. **MacDonald D, Ingersoll C, Moore D, Bonnell M, Breton R, Lindscoog R, MacDonald D, Muirhead Y, Pawlitz A, Sims D, Smorong D, Teed R, Thompson R, Wang N. 2002.** Calcasieu Estuary remedial investigation/feasibility study (RI/FS): Baseline ecological risk assessment (BERA). Technical report plus appendices. Contract No. 68-W5-0022. Prepared for CDM Federal Programs Corporation and United States Environmental Protection Agency. Dallas, Texas.
166. **MacDonald D, Ingersoll C, Smorong D, Lindscoog R. 2003.** Development and applications of sediment quality criteria for managing contaminated sediment in British Columbia. MacDonald Environmental Sciences Ltd. British Columbia. 112 pp.
167. **MacGeer JC, Szebedinszky C, Gordon McDonald D, Wood CM. 2000.** Effects of chronic sublethal exposure to waterborne Cu, Cd or Zn in rainbow trout 2: tissue specific metal accumulation. *Aquat Toxicol* 50: 245–256.
168. **MacKenney CL Jr, Costlow JD Jr. 1981.** The effects of salinity and mercury on developing megalopae and early crab stages of the blue crab, *Callinectes sapidus* Rathbun. Pages 241-262 in F.J. Vernberg, A. Calabrese, F. P. Thurberg, and W.B. Vernberg (eds.). *Biological monitoring of marine pollutants*. Academic Press, New York.
169. **MacLatchy J. 1992.** Overview of smelters and refineries based on Priority Substances List data for Cd, As, Cr, Hg, Ni and Pb. Environment Canada, Industrial Programs Branch, Ottawa.
170. **Maeda S, Ohki A, Tokuda T, Ohmine M. 1990.** Transformation of arsenic compounds in a freshwater food chain. *Appl. Organomet. Chem.* 4:251–254.
171. **Maret W, Moulis JM. 2012.** The bioinorganic chemistry of cadmium in the context of its toxicity. En: Sigel A, Sigel H, Sigel R, eds. *Cadmium: from toxicity to essentiality*. Series Metal ions in life sciences, vol 11. New York:Springer. p 2-23.
172. **Margalef R. 1983.** *Limnología*. Ediciones Omega. Barcelona. 1010 p.
173. **Marks PJ, Plaskett D, Potter I, Bradley J. 1980.** Relationship between concentration of heavy metals in muscle tissues and body weight of fish from the Swan-Avon estuary, Western Australia. *Aust. J. Mar. Fresh. Res.*, 31: 783-793.
174. **Marr JCA, Bergman HL, Lipton J, Hogstrand C. 1995.** Differences in relative sensitivity of naive and metals-acclimated brown and rainbow trout exposed to metals representative of the Clark Fork River, Montana. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 52:2016-2030.
175. **Mason RP, Reinfelder JR, Morel FMM. 1995.** Bioaccumulation of mercury and methylmercury. *Water Air Soil Pollut.* 80:915–921.

176. **Mason CF. 2002.** Biology of freshwater pollution. 4<sup>a</sup> ed. England: Essex Univ. 387 p.
177. **Matthiessen P, Brafield AE. 1973.** The effects of dissolved zinc on the gills of the stickleback *Gasterosteus aculeatus* (L). Journal of Fish Biology v 5: 607-613.
178. **Mayer LM, Schick LL. 1981.** Removal of hexavalent chromium from estuarine waters by model substrates and natural sediments. Environ. Sci. Technol. 15:1482-1484.
179. **Mazzafera P. 2003.** Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol. Rev. Bras. Bot. (São Paulo). 26(2):231-238.
180. **McCullough J, Hazen TC, Benson SM, Metting FB, Palmisano AC. 1999.** Bioremediation of metals and radionuclides...what it is and how it works. Office of Biological and Environmental Research of the U.S. Department of Energy's Office of Science. NABIR primer LBNL-42595.
181. **Meador JP. 1991.** The interaction of pH, dissolved organic carbon, and total copper in the determination of ionic copper and toxicity. Aquatic Toxicology 19:13-32.
182. **Miller DM, Woods JS. 1993.** Redox activities of mercury-thiol complexes: Implications for mercury-induced porphyria and toxicity. Chem Biol Interactions 88:23-35.
183. **[MINAG] Ministerio de Agricultura y Riego. 2010.** Decreto Supremo No 007-2010-AG. (Informe N° 007 -2010-ANA -DGCRH/JPM).
184. **[MINAM] Ministerio de Ambiente. 2008.** Estándares Nacionales de Calidad Ambiental para Agua (ECA). 2008. Decreto Supremo 002-2008-MINAM. Lima - Perú.
185. **[MINAM] Ministerio del Ambiente. 2010.** Protocolo para el Monitoreo de la Calidad de Aguas Continentales Superficiales. Dirección General de Calidad Ambiental. Lima – Perú. Ing. Ricardo Mari Gamboa. Julio de 2010.
186. **[MINAM] Ministerio del Ambiente. 2011.** Plan nacional de acción ambiental PLANAA - PERÚ 2011-2021. 2da. Edición. Julio 2011.
187. **[MINECO] Ministerio de Economía y Competitividad. 2011.** Legislación internacional de residuos de plaguicidas en productos vegetales. Legislación sobre contaminantes. DGde Comercio e Inversiones. SGde Inspección, Certificación y Asistencia Técnica del Comercio Exterior. España.
188. **[MINEM] Ministerio de Energía y Minas. 2009.** NP. 278-09. [Internet], [7 enero 2012]. Disponible en: <http://www.mem.gob.pe/descripcion.php?idSector=1&idTitular=1361>
189. **[MINEM] Ministerio de Energía y Minas. 2012.** Unidades mineras en producción y proyectos en exploración. Dirección de promoción minera-Dirección general de minería. Perú.
190. **[PRODUCE] Ministerio de la Producción. 2004.** Manual de cultivo de trucha Arcoíris en jaulas flotantes. Subproyecto "Programa de transferencia de tecnología en acuicultura para pescadores artesanales y comunidades campesinas". Acuerdo de colaboración interinstitucional AECI/PADESPA-FONDEPES. 120 pp.
191. **[PRODUCE] Ministerio de la Producción. 2008.** Situación actual de la acuicultura en el Perú. Dirección General de Acuicultura. Despacho Viceministerial de Pesquería.
192. **[PRODUCE] Ministerio de la Producción. 2009.** Plan Nacional de Desarrollo Acuícola. Dirección General de Acuicultura Despacho Viceministerial de Pesquería Ministerio de la Producción, Diciembre – 2009. Perú. pp 84.
193. **[PRODUCE] Ministerio de la Producción. 2010a.** Anuario estadístico 2010. Oficina General de Tecnología de la Información y Estadística, Julio – 2010. Perú.
194. **[PRODUCE] Ministerio de la Producción. 2010b.** "Elaboración de estudio de mercado de la trucha en Arequipa, Cusco, Lima, Huancayo y Puno". Estudio de determinación y especificaciones de la trucha.

Julio-2010. Perú. pp 23.

195. **[MINSA] Ministerio de Salud. 2009.** Tablas peruanas de composición de alimentos. 8ª Ed. Instituto Nacional de Salud, Centro Nacional de Alimentación y Nutrición. 64 p.
196. **Minns KC, Cairns VW, Randall RG, Moore JE. 1994.** An index of biotic integrity (IBI) for fish assemblages in the littoral zone of Great Lakes' areas of concern. *Can J Fish Aquat Sci* 51: 1804-1822.
197. **Mohamed FAS, Gad NS. 2008.** Environmental pollution-induced biochemical changes in tissues of *Tilapia zillii*, *Solea vulgaris* and *Mugil capito* from lake Qarun, Egypt. National Institute of Oceanography and Fisheries, Inland water and aquaculture branch, Al-Kanater Al-Khairya fish research station. *Global Veterinaria* 2(6): 327-336.
198. **Mondon JA, Duda S, Nowak BF. 2001.** Environmental, growth and 7-ethoxyresorufin O-deethylase (EROD) activity responses of greenback flounder *Rhombosolea tapirina* to contaminated marine sediment and diet. *Aquat Toxicol* 54: 231-247.
199. **Mueller EJ, Seger DL. 1985.** Metal fume fever: A review. *J Emerg Med* 2:271-274.
200. **[NAS] National Academy of Sciences. 1977a.** Arsenic. National Academy of Sciences, Washington, DC.
201. **[NAS] National Academy of Sciences. 1977b.** Copper. Committee on Medical and Biologic Effects of Environmental Pollutants, National Research Council, National Academy of Sciences, Washington, D.C. 115 pp.
202. **[NAS] National Academy of Sciences. 1978.** An assessment of mercury in the environment. *Natl. Acad. Sci.*, Washington, DC. 185 pp.
203. **[NAS] National Academy of Sciences. 1979.** Zinc. United States National Academy of Sciences, National Research Council, Subcommittee on Zinc. University Park Press, Baltimore, Md. 471 pp.
204. **[NAS] National Academy of Sciences. 2001.** Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. Food and Nutrition Board. Institute of Medicine. Washington, D.C.: National Academy Press; 800 pp.
205. **[NRC] National Research Council. 1992.** Environmental neurotoxicology. Washington DC: National Academy Press.
206. **[NRCC] National Research Council of Canada. 1978.** Effects of arsenic in the Canadian environment. NRCC No. 15391. National Research Council of Canada, Ottawa.
207. **[NTP] National Toxicology Program. 2005.** Report on carcinogens, eleventh edition. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Washington, DC.
208. **Nordberg GF, Kjellström T, Nordberg M. 1985.** Kinetics and metabolism. En: Friberg L, Elinder CG, Kjellström T, *et al.* eds. Cadmium and health: A toxicological and epidemiological appraisal. Vol. I. Exposure, dose, and metabolism. Boca Raton, FL: CRC Press, 103-178.
209. **Norseth T. 1981.** The carcinogenicity of chromium. *Environ. Health Perspect.* 40:121-130.
210. **Nowak BF, Deavin JG, Sarjito & Munday BL. 1992.** Scanning electron microscopy in aquatic toxicology. *J. Computer-Assisted Microsc.* 4:241-246.
211. **Nriagu JO. 1989.** Effects of atmospheric trace metal deposition on aquatic ecosystems. Background paper prepared for a workshop on The Effects of Atmospheric Contaminants on Aquatic and Terrestrial Ecosystems. Centre for Clean Air Policy, Washington, DC.
212. **Olaifa F, Olaifa AK, Adelaja AA, Owolabi AG. 2004.** Heavy metal contamination of *Clarias garpinus* from a lake and fish farm in Ibadan, Nigeria. *African J. biomed Res.*, 7: 145-148.

213. **Olsvik PA, Gundersen P, Andersen RA, Zachariassen KE. 2000.** Metal accumulation and metallothionein in two populations of brown trout, *Salmo trutta*, exposed to different natural water environments during a run-off episode. *Aquat Toxicol* 50: 301–316.
214. **Onkelinx C. 1977.** Compartment analysis of metabolism of chromium (III) in rats of various ages. *Am. J. Physiol.* 232:E478-E484.
215. **[OECD] Organisation for Economic Co-operation and Development. 1994.** Risk Reduction Monograph Number 4: Mercury. Organization for Economic Co-Operation and Development, Vol. II, 92. Paris, France.
216. **[OIE] World Organisation for Animal Health. 2012.** Código sanitario para los animales acuáticos. 12ª ed. París: Organización Mundial de Sanidad Animal. 358 p.
217. **Parker JG. 1979.** Toxic effects of heavy metals upon cultures of *Uronema marinum* (Ciliophora: Uronematidae). *Mar. Biol.* 54:17-24.
218. **Parrott JL, Sprague JB. 1993.** Patterns in toxicity of sublethal mixtures of metals and organic chemicals determined by MicrotoxR and by DNA, RNA, and protein content of fathead minnows (*Pimephales promelas*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 50:2245-2253.
219. **Patnaik BB, Howrelia H, Mathews T, Selvanayagam M. 2011.** Histopathology of gill, liver, muscle and brain of *Cyprinus carpio communis* L. exposed to sublethal concentration of lead and cadmium. *African Journal of Biotechnology* Vol. 10(57), pp. 12218-12223.
220. **Pawlisz, A.V., R.A. Kent, U.A. Schneider, and C. Jefferson. 1997.** Canadian water quality guidelines for chromium. *Environ. Toxicol. Water Qual.* 12:185–193.
221. **Pershagen G, Vahter M. 1979.** Arsenic--a toxicological and epidemiological appraisal. *Naturvardsverket Rapp. SNV PM 1128, Liber Tryck, Stockholm.* 265 pp.
222. **Pershagen G, Bjorklund NE. 1985.** On the pulmonary tumorigenicity of arsenic trisulfide and calcium arsenate in hamsters. *Cancer Lett.* 27:99-104.
223. **Pezo R, Paredes H, Bedayán NY. 1992.** Determinación de metales pesados bioacumulables en especies ícticas de consumo humano en la Amazonía peruana. *IIAP. Folia Amazonica* Vol. 4(2): 171-181.
224. **Poleksic V, Mitrovic-Tutundzic V. 1994.** Fish gills as monitor of sublethal and chronic effects of pollution. Sublethal and chronic effects of pollutants on freshwater fish. In: R Muller and R. Lloyd (Eds). Oxford, UK, FAO Fishing News Book. 339 – 352.
225. **Portal Centrovet. 2013.** Isoeugenol 50%. Anestésico para salmones.
226. **Prasad AS. 1979.** Clinical, biochemical, and pharmacological role of zinc. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 20:393-426.
227. **Preston AM, Dowdy RP, Preston MA, Freeman JN. 1976.** Effect of dietary chromium on glucose tolerance and serum cholesterol in guinea pigs. *J. Nutr.* 106:1391-1397.
228. **Rajeshkumar S, Munuswamy N. 2011.** Impact of metals on histopathology and expression of HSP 70 in different tissues of Milk fish (*Chanoschanos*) of Kaattuppalli Island, South East Coast, India. *Chemosphere* 83 (2011) 415–421.
229. **Rasmussen AD, Anderson O. 2000.** Effects on cadmium exposure on volume regulation in the lugworm, *Arenicola marina*. *Aquat Toxicol* 48: 151-164.
230. **Reid SS, McDonald DG. 1991.** Metal binding activity of the gills of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 48:1061-1068.
231. **Reuther R. 1986.** The occurrence and speciation of arsenic in the aquatic environment. A literature review. 86-11-20. SERG, Kil, Sweden.

232. **Reuther R. 1992.** Arsenic introduced into a littoral freshwater model ecosystem. *Sci. Total Environ.* 115:219–237.
233. **Risso de Faverney C, Devaux A, Lafaurie M, Girard JP, Bailly B, Rahmani R. 2001.** Cadmium induces apoptosis and genotoxicity in rainbow trout hepatocytes through generation of reactive oxygen species. *Aquat Toxicol* 53:65–76.
234. **Roa P. 2001.** Análisis de impactos ambientales en la calidad de las aguas del lago Rapel y sus potenciales efectos en la mortandad de los peces. Tesis Escuela de Ingeniería en Alimentos, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.
235. **Robert RJ. 1989.** *Fish Pathology.* 82A: 543 – 547.
236. **Roberts AP, Oris JT. 2004.** Multiple biomarker response in *rainbow trout* during exposure to hexavalent chromium. *Compar Biochem Physiol Part C Toxicol Pharmacol.* 138:221–228.
237. **Roch M, McCarter JA, Matheson AT, Clark MJR, Olafson RW. 1982.** Hepatic metallothionein in rainbow trout, (*Salmo gairdneri*) as an indicator of metal pollution in the Campbell River System. *Can J Fish Aquatic Sci.* 39:1596-1601.
238. **Romeo M, Mathieu A, Gnassia-Barelli M, Romana A, Lafaurie M. 1994.** Heavy metal content and biotransformation enzymes in two fish species from the NW Mediterranean. *Marine Ecology Progress Series* 107:15-22.
239. **Rosas H. 2001.** Estudio de la contaminación por metales pesados en la cuenca del Llobregat. Tesis Doctorado. Universidad Politécnica de Cataluña, España. 281 pp.
240. **Rosenthal S. 2007.** Frecuencia de lipidosis hepática en trucha Arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) de fase juvenil en una piscigranja de la sierra central del Perú. Tesis para optar el título de MV. Lima-Perú: Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 74p.
241. **Russell JE, Nichols JW, Cook PM, Ankley GT. 2008.** Bioavailability of chemical contaminants in aquatic systems. En: Di Giulio RT, Hinton DE, eds. *The toxicology of fishes.* USA: CRC Press, Taylor & Francis Group. p 9-54.
242. **Saeed SM, Shaker IM. 2008.** Assessment of heavy metals pollution in water and sediments and their effect on *Oreochromis niloticus* in the northern Delta lakes, Egypt. 8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture. pp 475-490.
243. **Sala LF, Rizzotto MA, Frascaroli MI, Palopoli CM, Signorella SR. 1995.** Contaminación ambiental por el metal de transición cromo. Estamos frente a un serio problema ecológico? Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas - Universidad Nacional de Rosario-CONICET-CIUNR. *Química Nova*, 18(5):468-474.
244. **Saleh HH. 1982.** Fish liver as indicator of aquatic environmental pollution. *Bull. Nat. Inst. Oceanograph. Fish, ARE*, 8: 69-79.
245. **Sanchez-Galan S, Linde AR, Garcia-Vazquez E. 1999.** Brown trout and European minnow as target species for genotoxicity tests: differential sensitivity to heavy metals. *Ecotoxicol Environ Saf* 43: 301–304.
246. **Sánchez L. 1995.** Control de la contaminación de las aguas. Departamento de Engenharia de Minas. Escola Politécnica da Universidad de São Paulo. Aspectos Geológicos de Protección Ambiental, Volumen I, UNESCO. 265 pp.
247. **Saxena R, Bedwal RS, Mathur RS. 1989b.** Zinc toxicity and male reproduction in rats: a histological and biochemical study. *Trace Elements in Medicine* 6:119-133.
248. **Schroeder HA, Nason AP, Tipton IH, Balassa JJ. 1966.** Essential trace metals in man: copper. *Journal of Chronic Diseases* 19:1007-1034.

249. **Shiomi K. 1994.** Arsenic in marine organisms: Chemical forms and toxicological aspects. In: Arsenic in the environment: Part II, Human health and ecosystem effects, J.O. Nriagu, ed. John Wiley & Sons, Inc., New York.
250. **Siegel FR. 2002.** Environmental geochemistry of potentially toxic metals. Germany: Springer. 218 pp.
251. **Singh J, Snow ET. 1998.** Chromium(III) decreases the fidelity of human DNA polymerase beta. *Biochemistry*; 37(26):9371-9378.
252. **Singhal RL, Vijayvargiya R, Shukla GS. 1985.** Toxic effects of cadmium and lead on reproductive functions. In: Thomas JA, Korach KS, Mc Lachlan JA (eds.), *Endocrine Toxicology*. New York: Raven Press 149–179.
253. **Skidmore JF. 1970.** Respiration and osmoregulation in rainbow trout with gills damaged by zinc sulphate. *Journal of Experimental Biology* v 52 (2): 481-494.
254. **[SNMPE] Sociedad nacional de minería, petróleo y energía. 2007.** La lixiviación. 59 Informe quincenal de la SNMPE: Agosto II 2007. Perú.
255. **Song MK, Kim YY, Heng MCY, et al. 1992.** Prostaglandin interacts with steroid sex hormones in the regulation of intestinal zinc transport. *Comp Biochem Physiol* 101A(3):477-481.
256. **Spear PA. 1981.** Zinc in the aquatic environment: chemistry, distribution, and toxicology. National Research Council of Canada Publication NRCC 17589. 145 pp.
257. **Spry DJ, Wiener JG. 1991.** Metal bioavailability and toxicity to fish in lowalkalinity lakes; a critical review. *Environ Pollut* 71: 243–304.
258. **Stanek M, Janicki B, Kupcewicz B. 2005.** Content of selected heavy metals in the organs of fish from Znin Duze Lake. *Folia Biologica (Krakow)*, 53: 115-119.
259. **Steven JD, Davies LJ, Stanley EK, Abbott RA, Ihnat M, Bidstrup L, Jaworski JF. 1976.** Effects of chromium in the Canadian environment. Nat. Res. Coun. Canada, NRCC No. 15017. 168 pp. Avail. From Publications, NRCC/CNRC, Ottawa, Canada, K1A OR6.
260. **Stockinger HE. 1981.** The metals. In: Patty's industrial hygiene and toxicology. Vol. II(A). G.D. Clayton and F.E. Clayton (Eds.). J. Wiley, New York, NY. p. 1531.
261. **Suzuki T, Imura N, Clarkson TW. 1991.** Overview. In: Advances in mercury toxicology, T. Suzuki, N. Imura, and T.W. Clarkson, eds. Plenum Press, New York.
262. **Svecevicus. 2006.** Acute toxicity of hexavalent chromium to European freshwater fish. *Bull Environ Contamn Toxicol*;77(5):741–747.
263. **Tailor EW, Beamont MW, Butler PJ, Mair J, Mujallid MI. 1996.** Lethal and sub-lethal effects of copper upon fish: a role for ammonia toxicity? In: Tailor E. W. (1996) ed. *Toxicology of Aquatic Pollution: Physiological, Cellular and Molecular Approaches*. Cambridge: Cambridge University Press.
264. **Thanabalasingam P, Pickering WF. 1986.** Arsenic sorption by humic acid. *Aquat. Toxicol.* 12: 233–246.
265. **Takamatsu T, Kawashima M, Koyama M. 1985.** The role of Mn<sup>2+</sup> - rich hydrous manganese oxide in the accumulation of arsenic in lake sediments. *Water Res.* 19:1029-1032.
266. **Takashima F, Hibiya T. 1995.** An atlas of fish histology. Kodansha, Gustav Fischer-Verlag. Tokyo, Stuttgart.
267. **Tan F, Wang M, Wang W, Lu Y. 2008.** Comparative evaluation of the cytotoxicity sensitivity of six fish cell lines to four heavy metals in vitro. *Toxicol in vitro*; 22(1):164–70.
268. **Tao TY, Liu F, Klomp L. 2003.** The copper toxicosis gene product murr1 directly interacts with the Wilson disease protein. *J Biol Chem* 278(43):41593-41596.

269. **Tsou TC, Chen CL, Liu TY. 1996.** Induction of 8-hydroxydeoxyguanosine in DNA by chromium(III) plus hydrogen peroxide and its prevention by scavengers. *Carcinogenesis* 17(1):103-108.
270. **Tulonen T, Pihlström M, Arvola L, Rask M. 2006.** Concentrations of heavy metals in food web components of small, boreal lakes. *Boreal Env Res* 11: 185-194.
271. **[USEPA] United States Environmental Protection Agency. 1980a.** Ambient water quality criteria for arsenic. U.S. Environ. Protection Agency Rep. 440/5-80-021. 205 pp.
272. **[USEPA] United States Environmental Protection Agency. 1980b.** Ambient water quality criteria for copper. U.S. Environmental Protection Agency Report 440/5-80-036. 162 pp.
273. **[USEPA] United States Environmental Protection Agency. 1980c.** Ambient water quality criteria for mercury. U.S. Environ. Protection Agency Rep. 440/5-80-058. Avail. from Natl. Tech. Infor. Serv., 5285 Port Royal Road, Springfield, Virginia 22161.
274. **[USEPA] United States Environmental Protection Agency. 1985.** Ambient water quality criteria for arsenic - 1984. U.S. Environ. Protection Agency Rep. 440/5-84-033. 66 pp.
275. **[USEPA] United States Environmental Protection Agency. 1987.** Ambient water quality criteria for zinc--1987. U.S. Environmental Protection Agency Report 440/5-87-003. 207 pp.
276. **[USEPA] United States Environmental Protection Agency. 1994a.** Method 200.8. Determination of trace elements in waters and wastes by inductively coupled plasma - mass spectrometry. Environmental monitoring systems laboratory. Office of research and development. Cincinnati, Ohio 45268.
277. **[USEPA] United States Environmental Protection Agency. 1994b.** The quality of our nation's water: 1994. Section 1 National Summary of Water Quality Conditions. National water quality inventory: 1994 Report to Congress. Washington, DC, USA. 48 pp.
278. **[USEPA] United States Environmental Protection Agency. 1999.** Method 245.1. Determination of mercury in water by cold vapor atomic absorption spectrometry. Revision 3.0. EMMC Version. Environmental Monitoring Systems Laboratory Office of Research and Development U.S. Environmental Protection Agency Cincinnati, Ohio 45268.
279. **[USEPA] United States Environmental Protection Agency. 2006.** Chemicals Evaluated for Carcinogenic Potential. Office of Pesticide Programs, Health Effects Division, Science Information Management Branch (April 2006).
280. **[USGS] United States Geological Survey. 1997.** Mercury contamination of aquatic ecosystems. U.S. Department of the Interior – U.S. Geological Survey.
281. **[USGS] United States Geological Survey. 2012.** Mineral commodity summaries 2012: U.S. Geological Survey, 198 p.
282. **Usero J, Morillo J, Gracia I. 1997.** Contaminación por metales en sedimentos acuáticos. *Tecnología del agua*. 166, 44-50.
283. **Usha Rani A. 2000.** Cadmium induced bioaccumulation in tissue of freshwater teleost *Oreochromis mossambicus*. *Ann NY Acad* 919 (1): 318-320.
284. **Vahten M. 1983.** Metabolism of arsenic, chap 5, In Fowler BA (Ed): *Biological and Environmental Effects of Arsenic*. Amsterdam, Elsevier Science. pp171-198.
285. **Vaisman A, Matthew MW, Chaney SG. 2001.** The Effect of DNA Structure on the Catalytic Efficiency and Fidelity of Human DNA Polymerase  $\beta$  on Templates with Platinum-DNA Adducts. *The Journal of Biological Chemistry*, (276): 18999-19005.
286. **Van der Putte I, Part P. 1982.** Oxygen and chromium transfer in perfused gills of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) exposed to hexavalent chromium at two different pH levels. *Aquatic Toxicol.* 2:31-45.



287. **Van der Putte I, Lubbers J, Kolar Z. 1981a.** Effect of pH on uptake, tissue distribution and retention of hexavalent chromium in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquatic Toxicol.* 1:3-18.
288. **Van der Putte I, Brinkhorst MA, Koeman JH. 1981b.** Effect of pH on the acute toxicity of hexavalent chromium to rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquatic Toxicol.* 1:129-142.
289. **Van Heerden D, Vosloo A, Nikinmaa M. 2004.** Effects of short-term copper exposure on gill structure, methallothionein and hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) levels in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquat. Toxicol.* 69:271-280.
290. **Venugopal B, Luckey TD. 1978.** Metal toxicity in mammals: chemical toxicity of metals and metalloids. Plenum Press, New York. In: WHO, 1990.
291. **Vieira LR, Gravato C, Soares AMVM, Morgado F, Guilhermino L. 2009.** Acute effects of copper and mercury on the estuarine fish *Pomatoschistus microps*: Linking biomarkers to behaviour, *Chemos*, 76: 1416-1427.
292. **Vila I, Contreras M, Pizarro J. 1997.** Eutrophication and phytoplakton selective responses in a temperate reservoir. *Verhandlungen Internationale Vereinung für Teorethische und Angewandte Limnologie* 26: 798-802.
293. **Vincent S, Ambrose T, Cyrill L, Selvanaygam M. 1995.** Biochemical responses of the Indian Major carp, *Catla catla* (Ham.) to chromium toxicity. *Indian J Environ Health*, 37:192–196.
294. **Vinodhini R, Narayanan M. 2008.** Bioaccumulation of heavy metals in organs of fresh water fish *Cyprinus carpio* (Common carp). *Int J Environ Sci Tech* 5 (2): 179-182.
295. **Vosyliene MZ, Jankaite A. 2006.** Effect of heavy metal model mixture on rainbow trout biological parameters. *Ekologija* 4: 12-17.
296. **Waqar A. 2006.** Levels of selected heavy metals in Tuna fish. *Arab J Sci Eng* 31 (1A): 89–92.
297. **[WHO] World Health Organization 1989.** Mercury- Environmental Aspects. World Health Organization, 86. Geneva, Switz.
298. **[WHO] World Health Organization. 1990.** Methylmercury. Environmental Health Criteria 101. International Programme on Chemical Safety (IPCS). World Health Organization, Geneva.
299. **[WHO] World Health Organization. 2001.** Barium and barium compounds. Geneva, Switzerland: World Health Organization.
300. **[WHO] World Health Organization. 2001.** Zinc. Environmental Health Criteria 221. Geneva, Switzerland: World Health Organization.
301. **Wiegand HJ, Ottenwalder H, Bolt HM. 1984.** The reduction of chromium(VI) to chromium(III) by glutathione: An intracellular redox pathway in the metabolism of the carcinogen chromate. *Toxicology* 33:341-348.
302. **Woolson EA. (Ed.). 1975.** Arsenical pesticides. Am. Chem. Soc. Symp. Ser. 7. 176 pp.
303. **Xu C, Holscher MA, Jones MM. 1995.** Effect of monoisoamyl meso-2,3-dimercaptosuccinate on the pathology of acute cadmium intoxication. *J Toxicol Environ Health* 45:261-277.
304. **Yoshida M, Fumukmoto M, Kishimoto T, et al. 1993.** Effects of zinc, selenium, and calcium on the nephrotoxicity of cadmium in primary cultures of rat renal proximal epithelial cells. *Biol Trace Elem Res* 36(3):219-227.
305. **Zöllmer V, Irion G. 1993.** Clay mineral and heavy metal distributions in the North-Eastern North Sea. *Marine geology*; 111, 223-230.

## ANEXO 1

### Ubicación geográfica de la laguna Mamacocha y de las estaciones de monitoreo.

Coordenadas UTM(Universal Transverse Mercator)de la ubicación de la concesión acuática.

Vértice	Coordenadas Geográficas		Coordenadas UTM	
	Latitud	Longitud	Este	Norte
A	6° 54' 49,94''	78° 25' 08,87''	785206	9234999
B	6° 54' 48,48''	78° 25' 05,96''	785296	9235043
C	6° 54' 45,58''	78° 25' 07,51''	785248	9235132
D	6° 54' 47,03''	78° 25' 10,32''	785162	9235088

Ubicación de las estaciones de monitoreo de laguna Mamacocha.

Estación	Coordenadas Geográficas		Coordenadas UTM		Observaciones
	Latitud	Longitud	Este	Norte	
LM-01	6° 54' 57,55''	78° 25' 17,29''	784946	9234766	Estación de impacto
LM-02	6° 54' 58,34''	78° 25' 18,78''	784900	9234742	Estación de referencia

Fuente: Informe técnico elaborado por HIDROSAT Y MEDIO AMBIENTE S.A.C. para la concesión acuática.

## ANEXO 2

### Métodos de referencia empleados en el estudio de la calidad del agua y sedimento de la laguna Mamacocha.

#### Métodos de referencia empleados en agua.

Parámetros	Unidades	Límite de detección	Método de referencia
<b>Físico químicos y microbiológicos</b>			
Detergentes Aniónicos	mg/L	1	APHA-AWWA-WEF. 5540 C. 21 <sup>st</sup> Edition 2005. Anionic Surfactants as MBAS
Demanda Bioquímica de Oxígeno	mg/L	0,5	APHA-AWWA-WEF. 5210 B. 21 <sup>st</sup> Edition 2005. 5-Day BOD Test
Nitrógeno Amoniacal	mg/L	0,010	APHA- AWWA-WEF. 4500-NH <sub>3</sub> F. 21 <sup>st</sup> Edition 2005. Phenate Method.
Dureza Total	mg/L	-	APHA-AWWA-WEF. 2340 C. 21 <sup>st</sup> Edition 2005. EDTA Titrimetric Method
Nitritos	mg/L	0,002	APHA- AWWA-WEF. 4500-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> B. 21 <sup>st</sup> Edition 2005. Colorimetric Method.
Nitratos	mg/L	0,006	APHA-AWWA-WEF. 4500-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> E. 21 <sup>st</sup> Edition 2005. Cadmium Reduction Method.
Fosfatos	mg/L	0,011	APHA-AWWA-WEF. 4500-P E. 21 <sup>st</sup> Edition 2005. Ascorbic Acid Method
Sólidos Totales en Suspensión	mg/L	1	APHA-AWWA-WEF. 2540 D. 21 <sup>st</sup> Edition 2005. Total Suspended Solids Dried at 103-105°C.
Aceites y Grasas	mg/L	0,1	EPA - Method 1664 Revision A: 1999 N-Hexane Extractable Material (HEM; Oil and Grease) and Silica Gel Treated N-Hexane Extractable Material (SGT- HEM; Non-polar Material) by Extraction and Gravimetry
Coliformes totales	NMP/100mL	1,8	APHA-AWWA-WEF,9221 B. 21 <sup>st</sup> Edition.2005. Multiple – Tube Fermentation Technique for Members of the Coliform Group. Standard Total Coliform Fermentation Technique.
Coliformes fecales	NMP/100mL	1,8	APHA-AWWA-WEF,9221 E1. 21 <sup>st</sup> Edition.2005. Multiple – Tube Fermentation Technique for Members of the Coliform Group.FecalColiform Procedure.
Sulfuros	mg/L	0,1	APHA-AWWA-WEF. 4500-S2- F 21 <sup>st</sup> Edition 2005 .Iodometric Method
Pesticidas	mg/L	(Cualitativo)	Cromatografía en capafina.
<b>Metales</b>			
Metales	mg/L	(Ver informe de ensayo N° 1201003A	EPA 200.8 Determination of trace elements in waters and wastes by inductively coupled plasma mass spectrometry. Revisión 5.4. 1994
<b>In situ</b>			
Oxígeno Disuelto	mg/L	0,01	(Kit de Oxígeno Disuelto marca HANNA) EPA 360.2 1999 Oxygen Dissolved, Modified Winkler Full Bottle Technique.
pH	-	0,01	EPA 150.1 Approved for NPDES 1999 (Editorial Revision 1978, 1982).
Temperatura	°C	0,01	EPA Method 170.1 600/4-79-020 Revised March.
Conductividad	uS/cm	0,01	EPA 120.1 1999 Conductance (Specific Conductance, umhos at 25°C) Approved for NPDES 1999 (Editorial Revision 1982)
Salinidad	g/L	0,01	EPA 120.1 1999 Conductance (Specific Conductance, umhos at 25°C) Approved for NPDES 1999 (Editorial Revision 1982)
Caudal	L/s	-	Método del Flotador.
Transparencia	m	-	Método del disco Secchi

Métodos de referencia empleados en sedimento.

Parámetros	Unidades	Límite de detección	Método de referencia
Materia Orgánica	%	0,002	R.M. N°003-2002-PE . Normas Legales Diario El Peruano. Protocolo para el Monitoreo de Efluentes y Cuerpo Marino Receptor. Ministerio de Pesquería.
Granulometría	%	-	NTP 339.128 .1999. Métodos de ensayo para el análisis granulométrico.
Sulfuros	mg/Kg	0,1	APHA-AWWA-WEF. 4500-S <sup>2-</sup> F 21 <sup>st</sup> Edition 2005. Iodometric Method
Coliformes totales	NMP/100 mL	1,8	APHA-AWWA-WEF, 9221 B. 21 <sup>st</sup> Edition.2005. Multiple – Tube Fermentation Technique for Members of the Coliform Group. Standard Total Coliform Fermentation Technique.
Coliformes fecales	NMP/100 mL	1,8	APHA-AWWA-WEF, 9221 E1. 21 <sup>st</sup> Edition.2005. Multiple – Tube Fermentation Technique for Members of the Coliform Group. Fecal Coliform Procedure.
<b>Metales</b>			
Metales	mg/Kg.	(Ver informe de ensayo N° 1201003S DELTA LAB)	EPA 200.8 Determination of trace elements in waters and wastes by inductively coupled plasma mass spectrometry. Revisión 5.4, 1994.

Fuente: Informe técnico elaborado por HIDROSAT Y MEDIO AMBIENTE S.A.C. para la concesión acuática.

### ANEXO 3

#### Calidad del sedimento medido en la laguna Mamacocha, Cajamarca-Perú.

Parámetro físico-químico	Estaciones de muestreo	
	LM-01	LM-02
Materia orgánica (%)	36,08	34,73
Sulfuros (mg/kg)	378,60	365,0
<i>Microbiología</i>		
Coliformes Totales(NMP/100 m/L)	6,8	< 1,80
Coliformes Fecales (NMP/100 m/L)	< 1,80	< 1,80

#### Granulometría de la estación LM-01 y LM-02.

DIAMETRO (mm)	% QUE PASA	
	LM - 01	LM - 02
0,5	100	100
0,355	99,9	99,73
0,25	96,9	89,31
0,18	84,42	77,08
0,125	70,56	63,25
0,09	55,73	49,36
0,009	-	47,07
0,007	-	43,78
0,006	52,23	40,5
0,005	44,44	37,25

Fuente: Informe técnico elaborado por HIDROSAT Y MEDIO AMBIENTE S.A.C. para la concesión acuática.

## ANEXO 4

### Decreto Supremo 002-2008-MINAM. Lima - Perú.

#### Estándares Nacionales de Calidad Ambiental para Agua.

#### CATEGORÍA 4: CONSERVACIÓN DEL AMBIENTE ACUÁTICO

PARÁMETROS	UNIDADES	LAGUNAS Y LAGOS	RÍOS		ECOSISTEMAS MARINO COSTEROS	
			COSTA Y SIERRA	SELVA	ESTUARIOS	MARINOS
FÍSICOS Y QUÍMICOS						
Aceites y grasas	mg/L	Ausencia de película visible	Ausencia de película visible	Ausencia de película visible	1	1
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO5)	mg/L	<5	<10	<10	15	10
Nitrógeno Amoniacal	mg/L	<0,02	0,02	0,05	0,05	0,08
Temperatura	Celsius					delta 3 °C
Oxígeno Disuelto	mg/L	≥5	≥5	≥5	≥4	≥4
pH	unidad	6,5-8,5	6,5-8,5		6,8-8,5	6,8 - 8,5
Sólidos Disueltos Totales	mg/L	500	500	500	500	
Sólidos Suspendidos Totales	mg/L	≤25	≤25 - 100	≤25 - 400	≤25-100	30,00
INORGÁNICOS						
Arsénico	mg/L	0,01	0,05	0,05	0,05	0,05
Bario	mg/L	0,7	0,7	1	1	----
Cadmio	mg/L	0,004	0,004	0,004	0,005	0,005
Cianuro Libre	mg/L	0,022	0,022	0,022	0,022	----
Clorofila A	mg/L	10	----	----	----	----
Cobre	mg/L	0,02	0,02	0,02	0,05	0,05
Cromo VI	mg/L	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Fenoles	mg/L	0,001	0,001	0,001	0,001	
Fosfatos Total	mg/L	0,4	0,5	0,5	0,5	0,031 - 0,093
Hidrocarburos de Petróleo Aromáticos Totales	Ausente				Ausente	Ausente
Mercurio	mg/L	0,0001	0,0001	0,0001	0,001	0,0001
Nitratos (N-NO3)	mg/L	5	10	10	10	0,07 - 0,28
INORGÁNICOS						
Nitrógeno Total	mg/L	1,6	1,6		----	----
Níquel	mg/L	0,025	0,025	0,025	0,002	0,0082
Plomo	mg/L	0,001	0,001	0,001	0,0081	0,0081
Silicatos	mg/L	----	----	----	----	0,14-0,7
Sulfuro de Hidrógeno ( H2S indisoluble)	mg/L	0,002	0,002	0,002	0,002	0,06
Zinc	mg/L	0,03	0,03	0,3	0,03	0,081
MICROBIOLÓGICOS						
Coliformes Termotolerantes	(NMP/100mL)	1 000	2 000		1 000	≤30
Coliformes Totales	(NMP/100mL)	2 000	3 000		2 000	

**NOTA:** Aquellos parámetros que no tienen valor asignado se debe reportar cuando se dispone de análisis

**Dureza:** Medir "dureza" del agua muestreada para contribuir en la interpretación de los datos (método/técnica recomendada: APHA-AWWA-WPCF 2340C)

**Nitrógeno total:** Equivalente a la suma del nitrógeno Kjeldahl total (Nitrógeno orgánico y amoniacal), nitrógeno en forma de nitrato y nitrógeno en forma de nitrato (NO)


**Amonio:** Como NH3 no ionizado

**NMP/100 mL:** Número más probable de 100 mL

**Ausente:** No deben estar presentes a concentraciones que sean detectables por olor, que afecten a los organismos acuáticos comestibles, que puedan formar depósitos de sedimentos en las orillas o en el fondo, que puedan ser detectados como películas visibles en la superficie o que sean nocivos a los organismos acuáticos presentes.

## ANEXO 5

### Lista de sustancias químicas indicando sus límites máximos permisibles para la acuicultura.

	DIRECCION DE INSPECCION Y CONTROL SANITARIO		DIVISIÓN DE CONTROL SANITARIO DEL MEDIO AMBIENTE ACUÍCOLA	
	PROCEDIMIENTO: CONTROL DE RESIDUOS DE MEDICAMENTOS VETERINARIOS, SUSTANCIAS PROHIBIDAS Y PLAGUICIDAS EN LA ACUICULTURA		Revisión: 00	Página: 12 de 14

## ANEXO 01

### LISTA DE SUSTANCIAS QUÍMICAS INDICANDO SUS LIMITES MÁXIMOS PERMISIBLES PARA LA ACUICULTURA

SUSTANCIAS PROHIBIDAS	Limite LMP
17 B-estradiol	Ausencia
Cloranfenicol	Ausencia
Diclorvos	Ausencia
Dimetridazol	Ausencia
Estilbenos	Ausencia
Ivermectina	Ausencia
Leuco Verde de Malaquita	Ausencia
Nitrofuranos (Furazolidona, nitrofurazona)	Ausencia
Verde de Malaquita	Ausencia
Zeranol	Ausencia
<b>MEDICAMENTOS VETERINARIOS</b>	
Acido Oxolinico	0.1 ppm
Amoxicilina	0.05 ppm
Benzoato de Emamectina	0.1 ppm
Ciprofoxacino	0.1 ppm
Enrofloxacina	0.1 ppm
Eritromicina	0.2 ppm
Flumequina	0.15 ppm
Florfenicol	1.0 ppm
Sulfas	0.1 ppm
Oxitetraciclina	0.1 ppm
Trifuralin	0.001 ppm
<b>PLAGUICIDAS</b>	
2,4 - Dc	1.0 ppm
Aldrin	0.01 ppm
Clordano	0.02 ppm
DDE	0.04 ppm
DDT	0.04 ppm
Diquat	0.1 ppm
Heptacloro	0.01 ppm
Heptacloro epóxico	0.01 ppm
Mirex	0.1 ppm
PCB's	2.0 ppm
TDE	0.04 ppm
<b>METALES PESADOS</b>	
Arsénico Total	4.0 ppm
Cadmio	0.05 ppm
Cromo	0.2 ppm
Plomo	0.2 ppm
Metil Mercurio	0.3 ppm
Mercurio	0.5 ppm